

Wertigkeit der direkten
radioimmunologischen Bestimmung
des freien Thyroxins im Vergleich zum
Freien-Thyroxin-Index (FT4I) und
dem Thyroxin/TBG-Quotienten in der
Schilddrüsenfunktionsdiagnostik

Wolfgang Lupberger

*Disse
München
1984*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554009_0039

Aus der Medizinischen Klinik II, Klinikum Großhadern
der Universität München
Direktor: Prof. Dr. G. Paumgartner

*Wertigkeit der direkten radioimmunologischen
Bestimmung des freien Thyroxins im Vergleich
zum Freien-Thyroxin-Index (FT4I) und dem
Thyroxin/TBG-Quotienten in der
Schilddrüsenfunktionsdiagnostik*

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten
Medizin an der Ludwig Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von

Wolfgang Lupberger

aus

Augsburg

Jahr

1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. D. Jüngst

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Paumgartner

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 10. Juli 1984
.....

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

Inhaltsübersicht

	Seite
<u>1. Einleitung</u>	1
1.1. Physiologie der Schilddrüse	1
1.2. Bedeutung des freien Thyroxins (Zusammenfassung)	4
1.3. Indirekte Methoden zur Erfassung des FT4	4
1.3.1. Effective-thyroxine-ratio (ETR)	5
1.3.2. Totaler Bindungsindex (TBI)/ Freier-Thyroxin-Index (FT4I)	6
1.3.3. Thyroxin/TBG-Quotient	8
1.4. Kommerzielle Verfahren zur direkten FT4-Bestimmung	8
1.4.1. Coated-tube-Methode	8
1.4.2. Membran-Trennverfahren	9
1.4.3. Zwei-Röhrchen-Methode	10
1.4.4. Amerlex FT4 RIA	11
1.5. Problemstellung	12
<u>2. Material und Methoden</u>	13
2.1. Patientenkollektiv	13
2.2. Bestimmung des Gesamt-Thyroxins und TRH-Test	13
2.3. Klassifizierung der Patienten	14
2.4. Eigene Bestimmungen	16
2.4.1. Seren und Geräte	16
2.4.2. Totaler Bindungsindex (TBI)	17
2.4.3. TBG-Radioimmunoassay	22
2.4.4. Amerlex FT4 RIA	24
<u>3. Ergebnisse</u>	31
3.1. Resultate der TBG-Bestimmung	31
3.2. Korrelationen zwischen den verglichenen Verfahren	32
3.3. Meßbereiche und Normwerte für FT4, T4/TBG-Quotienten und FT4I	49
3.4. Treffsicherheit der verglichenen Verfahren	53

	Seite
<u>4. Diskussion</u>	57
4.1. Patientenkollektiv und Klassifikation	57
4.2. Eigene Bestimmungen	58
4.2.1. Totaler Bindungsindex (TBI)	59
4.2.2. TBG-Radioimmunoassay	59
4.2.3. Amerlex FT4 RIA	60
4.3. Ergebnisse	61
4.3.1. Korrelationen	61
4.3.2. Meßbereiche	62
4.3.3. Ergebnisse in der Gravidität	62
4.3.4. Treffsicherheit der verglichenen Verfahren	63
<u>5. Zusammenfassung</u>	66
<u>6. Literaturverzeichnis</u>	68

1. Einleitung:

1.1. Physiologie der Schilddrüse:

Obwohl die menschliche Schilddrüse zwei Arten von Hormonen produzieren kann - Calcitonin einerseits und Trijodthyronin(T3) bzw. Thyroxin(T4) andererseits -, bezeichnet man üblicherweise nur die beiden letzten als "Schilddrüsenhormone". Ihre Synthese ist an die ungestörte Fähigkeit der Thyreozyten gebunden, aus dem Plasma Jodid aufzunehmen und anzureichern. Die Serumkonzentration an anorganischem Jodid wird in der Regel mit 0,2 - 0,5 µg/100 ml angegeben (20); sie ist jedoch in Abhängigkeit von dem Jodgehalt der Nahrung großen Schwankungen unterworfen und wird durch die renale Ausscheidung und die thyreoidale Jodid - Clearance beeinflusst.

In den Thyreozyten wird das Jodid in einer Peroxidase-Reaktion zu molekularem Jod oxidiert und an L-Thyrosinradikale im Thyreoglobulin gebunden. Es entstehen die Hormonvorstufen Monojodthyrosin und Dijodthyrosin. Diese verlassen die Schilddrüse wahrscheinlich nur in sehr geringen Mengen und besitzen keine bedeutsame Eigenwirkung. In der letzten Phase der Hormonsynthese werden in einer Kopplungsreaktion, deren genauer Ablauf noch ungeklärt ist, zwei Jodthyrosine zu einem Jodthyronin zusammengefügt. Die so gebildeten Thyroxin- und Trijodthyroninmoleküle bleiben an das Thyreoglobulin gebunden und werden im Kolloid der Schilddrüsenfollikel gespeichert. Voraussetzung für die Hormonsekretion ist demnach die Endozytose von Kolloid und die enzymatische Proteolyse des Thyreoglobulins.

Thyroxin, der weitaus größte Anteil des Schilddrüseninkrets, und Trijodthyronin gelangen in die Blutbahn, während die Degradationsprodukte des Thyreoglobulins und das bei der Dejodierung von entstehenden Jodthyrosinen anfallende Jod in der Schilddrüse größtenteils wiederverwendet werden.

Im Plasma wird Thyroxin überwiegend gebunden an die Proteine Thyroxin-bindendes-Globulin (TBG), Thyroxin-bindendes-Präalbumin (TBPA) und Albumin (35) transportiert, wobei dem TBG die größte Bedeutung zukommt. TBG ist ein Glycoproteid mit einem Molekulargewicht zwischen 37 000 und 59 000. Es wird in der Leber synthetisiert und wandert in der Elektrophorese zwischen den α_1 und den α_2 Globulinen. Pro Molekül besitzt es eine Bindungsstelle für Thyroxin, deren Affinität zum Substrat sehr hoch ist: die Gleichgewichtskonstante für die Assoziationsreaktion beträgt 10^{10} l/Mol und liegt somit um den Faktor 100 höher als die des TBPA und um den Faktor 10 000 höher als die des Serumalbumins (20). HERTL und ODSTRCHL geben die Bindungs-Enthalpie für TBG und Thyroxin mit 7kcal/Mol an (19). Unter normalen Bedingungen sind annähernd 75 % des zirkulierenden Thyroxins an TBG gebunden, obwohl dessen Serumkonzentration nur 1 - 2 mg/100 ml beträgt. Die restlichen 25 % verteilen sich etwa zu gleichen Teilen auf TBPA und Albumin.

Nur ca. 0,03 % des Gesamt-Thyroxins liegen im Plasma in freier Form vor (36). Ausschließlich diese sogenannte freie Thyroxin (FT₄), das mit dem proteingebundenen im Gleichgewicht steht, ist nach derzeitiger Auffassung in der Lage, mit den Zielorganen in Kontakt zu treten.

Nach der Aufnahme in die Target-Zelle wird Thyroxin zu Trijodthyronin, der eigentlichen Wirksubstanz, dejodiert. Die Effekte des Schilddrüsenhormons sind außerordentlich komplex und erstrecken sich auf viele Organsysteme. Sie im Einzelnen zu beschreiben, kann nicht Aufgabe dieser Arbeit sein. Ganz allgemein läßt sich jedoch sagen, daß die Wirkung des Schilddrüsenhormons im Gesamtorganismus zu einer Steigerung des Grundumsatzes und damit auch zu einer Erhöhung des Sauerstoffbedarfs führt.

Die Halbwertszeit von Thyroxin im Plasma ist aufgrund der hohen Proteinbindungsrate mit sieben Tagen relativ lang. Die Inaktivierung erfolgt in der Leber durch Konjugation mit Glukuron- oder Schwefelsäure. Die Konjugate werden hauptsächlich über die Niere ausgeschieden, gelangen aber auch mit der Galle ins Intestinum. Dort werden die Säurereste hydrolytisch abgespalten und ein gewisser Teil des T₄ tritt in einen enterohepatischen Kreislauf ein.

Die Regulation der Schilddrüsenaktivität erfolgt durch einen komplizierten Steuermechanismus: das Hypothalamus-Hypophysen-System. Das im Hypothalamus gebildete Tripeptid Thyreotropin-releasing-factor (TRH) gelangt über ein Pfortadersystem in den Hypophysenvorderlappen, wo es die Sekretion des Thyreoidea-stimulierenden-Hormons (TSH) bewirkt. TSH beschleunigt in der Schilddrüse alle Phasen der Hormonsynthese sowie die Proteolyse des Thyreoglobulins. Histologisch zeigt die TSH-stimulierte Schilddrüse einen verminderten Kolloidgehalt und eine Vergrößerung der Thyreozyten.

Über einen feed-back Mechanismus hemmt Thyroxin die Ausschüttung von TRH und insbesondere die

von TSH (26). Für diese negative Rückkopplung scheint vor allem die Konzentration an freiem T4 von Bedeutung zu sein. Nur so ist es verständlich, daß in der Gravidität (16), unter oraler Antikonzeption (31) und bei anderen Zuständen, die mit einer TBG-Vermehrung und konsekutiver Erhöhung des Gesamt-Thyroxinspiegels einhergehen, die TSH-Sekretion üblicherweise nicht supprimiert ist und auch der TRH-Test normale Werte liefert.

1.2. Bedeutung des freien Thyroxins (Zusammenfassung)

Wie aus den bisherigen Ausführungen hervorgeht, ist nur das freie Thyroxin stoffwechselaktiv: Es tritt mit den Erfolgsorganen in Kontakt und vermittelt die negative Rückkopplung zu Hypothalamus und Hypophyse. Da die FT4-Konzentration obendrein von den Bindungsprotein-Spiegeln unabhängig ist (23), gibt die Bestimmung des freien Thyroxins wohl am direktesten Auskunft über die Schilddrüsenfunktion.

1.3. Indirekte Methoden zur Erfassung des FT4

Seit STERLING und HEGEDUS im Jahre 1962 ihr Gleichgewichtsdialyse-Verfahren zur Bestimmung des freien Thyroxins im Serum beschrieben (43), gab es noch eine ganze Reihe anderer Ansätze. Sie basierten auf Ultrafiltration (45), Gel-Filtration (29) oder einer Kombination von Dialyse und Gaschromatographie (36).

Sie alle waren aber wegen des großen zeitlichen und apparativen Aufwandes für die klinische Routine ungeeignet. So behalf man sich mit mehr oder weniger indirekten Methoden zur Abschätzung

des freien Thyroxinanteils im Serum. Ihnen gemeinsam ist die Bestimmung des Gesamtthyroxins und zusätzliche Bindungsanalysen.

1.3.1. Effective-thyroxine-ratio (ETR)

Die Bestimmungsmethode ist weitgehend identisch mit dem Displacement-Verfahren zur Messung des Gesamtthyroxins (Murphy-Pattee-Verfahren, T4-D). Aus der Serumprobe wird das Thyroxin mittels Äthanol extrahiert. Dann fügt man dem Extrakt eine bestimmte Menge TBG hinzu, welches mit radioaktiv markiertem T4 gesättigt ist. Proportional zur Konzentration von Thyroxin im Probeserum wird radioaktives T4 aus seiner Proteinbindung freigesetzt. Nach Zugabe von Nativ-Patientenserum nehmen die darin enthaltenen Schilddrüsenhormon-Bindungsproteine je nach dem Grad ihrer Sättigung das verdrängte radioaktive Thyroxin auf. Die nicht gebundene Radioaktivität wird mittels eines Ionenaustauschers aus der Lösung entfernt. Die in der Probe verbliebenen Impulse werden mit denen eines simultan mitbestimmten Standardserums durch Quotientenbildung verglichen (cpm Standardserum/cpm Patientenserum).

Ein im erhöhten Bereich liegender Gesamt-Thyroxinwert kann bedingt sein durch eine echte Mehrsekretion der Schilddrüse aber auch durch Vermehrung von TBG, wie es z.B. in der Gravidität vorkommt. Im ersten Fall ist die Konzentration des freien T4 hoch, im anderen Fall aber normal.

Bei der ETR-Bestimmung würden die großen extrahierten Thyroxinmengen eines Hyperthyreose-

serums zu einer erheblichen Verdrängung von radioaktiv markiertem T4 führen, das sich dann auch nur in geringem Maß an die bereits hoch gesättigten Trägerproteine des Nativ-Serums binden würde. Der größte Anteil der Radioaktivität würde vom Ionenaustauscher abgefangen, und die Zählrate einer solchen Probe wäre klein. Demzufolge besäße der Quotient einen für Hyperthyreose typisch hohen Wert.

Im Falle der durch TBG-Vermehrung bedingten Erhöhung der Gesamt-Thyroxinkonzentration würde zwar auch viel radioaktives T4 freigesetzt; da aber der Bindungsprotein-Gehalt des zugegebenen Nativ-Serums hoch ist, würde dort eine größere Menge Radioaktivität adsorbiert, die Zählrate dieser Probe wäre relativ hoch. Der gebildete Quotient sollte dann einen der tatsächlichen Stoffwechselsituation entsprechenden Wert im Normbereich ergeben (18, 33, 34, 44). Entsprechende Ergebnisse resultieren bei Hypothyreose und bei verminderter Transportkapazität im Serum.

1.3.2. Totaler Bindungsindex(TBI)-Freier-Thyroxin-Index(FT4I)

Der Totale Bindungsindex (TBI) ist einer der gebräuchlichsten Tests zur Ermittlung der relativen Sättigung der TBG-Bindungsstellen durch Thyroxin. Sein Prinzip ähnelt dem des T3-Uptake-Verfahrens (T3U). Der von uns verwendete Enzymun-Test TBK von Boehringer Mannheim arbeitet nach der ELISA-Methode (enzyme linked immunosorbent assay).

Die Serumprobe wird in einem ersten Schritt mit einem Überschuß von exogenem Thyroxin und einem Thyroxin-Peroxidase(POD)-Konjugat inkubiert.

Dabei werden die freien Bindungsstellen der Transportproteine im Serum von T₄ besetzt; das T₄-POD-Konjugat wird aus sterischen Gründen jedoch nicht fixiert. Es konkurriert mit dem nicht gebundenen Anteil des exogenen Thyroxins um die Paratope der an der Innenwand der mitgelieferten Röhrchen immobilisierten Anti-T₄-Antikörper. Im bound-free-Trennschritt werden alle gelösten Bestandteile entfernt. Zurück bleibt - an Antikörper gebunden - Thyroxin und Thyroxin-Peroxidase-Konjugat. Im zweiten Inkubationsschritt entsteht nach Zugabe von Substrat (H₂O₂) und Chromogen (ABTS) durch die Redox-Reaktion ein Farbstoff, dessen Konzentration der verbliebenen Enzymaktivität (und der Zeit) proportional ist.

Liegen die Transportproteine für Schilddrüsenhormone im Serum in hoher Konzentration vor oder ist die Sekretion von Thyroxin gering, wird im ersten Inkubationsschritt viel exogenes Thyroxin an die Serumproteine gebunden, und die Adsorption von T₄-POD-Konjugat an die Antikörper ist dementsprechend groß. Die hohe Enzymaktivität führt in der anschließenden Indikatorreaktion zu starker Farbstoffbildung, die photometrisch nach einem genau definierten Zeitraum erfaßt wird (TBI erhöht). Umgekehrte Befunde erhält man bei echter Hyperthyreose und TBG-Mangelzuständen.

Ein Zahlenwert für die freie Fraktion des Thyroxins ergibt sich aus der Division von Gesamt-Thyroxin und TBI ($T_4^{\text{ges}}/\text{TBI}$): der Freie-Thyroxin-Index (FT₄I) (30). Dieses mathematische Verfahren ist heute weit verbreitet, obwohl seine Fähigkeit, bei extremeren Formen der TBG-Anomalien ausreichend zu korrigieren, bezweifelt wird (10).

1.3.3. Thyroxin/TBG-Quotient

Ein neuer Ansatz wurde möglich, als es gelang, das Thyroxin-bindende Globulin (TBG) in einem Radioimmunoassay direkt zu messen (22, 27). Für unsere Bestimmungen verwendeten wir den TBG-RIAKit von Henning Berlin. Es handelt sich hierbei um einen Gleichgewichts-Radioimmunoassay mit Doppel-Antikörper-Technik. Die Einzelheiten radioimmunologischer Bestimmungen sind hinlänglich bekannt und sollen deshalb hier nicht näher erörtert werden. Aus den Ergebnissen der Gesamt-Thyroxin-Bestimmungen und den TBG-Konzentrationen errechnet sich der T4/TBG-Quotient (37).

1.4. Kommerzielle Verfahren zur direkten FT4-Bestimmung

Erst in neuerer Zeit wurden verschiedene Methoden zur direkten Bestimmung des freien Thyroxins vorgestellt, die auch für die Verwendung in der klinischen Routine geeignet waren. Sie alle basieren auf dem Prinzip des Radioimmunoassays.

1.4.1. Coated-tube-Methode

Kernstück dieses Verfahrens ist, wie schon der Name sagt, das mit Anti-T4-Antikörpern beschichtete Reaktionsgefäß.

Das Patientenserum wird mit inertem Puffer verdünnt und in das Röhrchen gebracht. Der erste Inkubationsschritt dauert nur 10 Minuten. Während dieser Zeit wird das freie T4 aus dem

Serum entzogen. Anschließend wird das Röhrchen dekantiert und ausgewaschen, um TBG und daran gebundenes Thyroxin zu entfernen. Danach wird radioaktiv markiertes T4 als Tracer zugegeben, welches die restlichen Antikörperbindungsstellen besetzt. Nach einer Inkubationszeit von einer Stunde wird dekantiert, gewaschen und die Impulsrate gemessen, die der FT4-Konzentration umgekehrt proportional ist (4, 11).

Viele der derzeitig erhältlichen coated-tube-Assays sind nicht auf pH 7 eingestellt. Diese Tatsache und die oft großen eingesetzten Antiserum-Mengen können das Gleichgewicht zwischen Thyroxin und seinen Bindungsproteinen stören und damit die Ergebnisse verfälschen.

1.4.2. Membran-Trennverfahren

Diese Methode simuliert die Gegebenheiten bei der Gleichgewichtsdialyse. Das Antiserum ist mit ^{125}J -markiertem Thyroxin gesättigt und in semipermeable Nylon-Kügelchen von 20 - 80 μm Durchmesser verpackt.

Aus dem zugesetzten Patientenserum diffundiert das bewegliche freie T4 in die Kügelchen und verdrängt dort proportional zu seiner Menge den Tracer aus der Antikörperbindung. Die Kinetik dieser Reaktion wird durch die Diffusionsgeschwindigkeit kontrolliert; das Gleichgewicht ist nach etwa zwei Stunden erreicht. Danach werden die Kügelchen abzentrifugiert, und die in ihnen verbliebene Radioaktivität wird gemessen. Auch hier besteht eine umgekehrte Proportionalität zwischen FT4-Konzentration und Impulsrate (1, 2, 17).

Die Vorteile dieser Methode liegen in der einfachen Durchführbarkeit durch Verwendung von nur einem Reagenz und in der ausreichend hohen Sensitivität aufgrund der Gleichgewichtseinstellung. Allerdings stimmen die Ergebnisse nicht mit denen der Dialyse überein (17), was darauf hindeutet, daß auch hier Störungen des T4/Bindungsprotein-Gleichgewichtes eintreten.

1.4.3. Zwei-Röhrchen-Methode

Pro Serumprobe sind bei diesem Verfahren zwei Bestimmungen notwendig. Im Röhrchen "A" wird das Patientenserum zuerst 20 Minuten lang nur mit der Tracersubstanz inkubiert, wobei sich das ^{125}J -Thyroxin mit den Bindungsproteinen ins Gleichgewicht setzt. Um die Paratope der anschließend zugesetzten, immobilisierten Anti-T4-Antikörper konkurrieren in der zweiten Inkubationsphase das freie exogene und das freie endogene Thyroxin. Zum Serum in Röhrchen "B" wird gleichzeitig mit dem Tracer Thimerosal zugegeben, welches das endogene Thyroxin aus seiner Proteinbindung freisetzt; hier konkurriert also das Gesamt-Thyroxin der Probe mit dem markierten T4 um die Antikörperbindungsstellen. Nach Ablauf der immunologischen Reaktion werden beide Röhrchen zentrifugiert und dekantiert. Aus der Impulsrate von Röhrchen "B" ergibt sich mittels einer Standardkurve die Gesamt-Thyroxinkonzentration. Die Impulse in Röhrchen "A" werden mit denen des puren Tracers durch Quotientenbildung verglichen. Die Konzentration des FT4 ergibt sich schließlich aus folgender Formel:

$$\text{cpm}_A / \text{cpm}_{\text{Tracer}} \times \text{T4}_{\text{ges.}} \quad (8,13,48).$$

Dieses Vorgehen erinnert stark an die indirekten Methoden zur FT4-Bestimmung. Die Durchführung ist trotz der Fest-Phasen-Technik, die einen zweiten Antikörper unnötig macht, relativ aufwendig.

1.4.4. Amerlex FT4 RIA

Den bisher beschriebenen Methoden steht ein neues Testprinzip gegenüber, das erst kürzlich entwickelt wurde.

Zwei Faktoren machen die Besonderheit dieses Äquilibrium-Radioimmunoassays aus:

1. Der an Glaspartikel immobilisierte Anti-FT4-Antikörper, dessen Bindungskonstante für Thyroxin weit größer ist als die des TBG und
2. die Tracersubstanz, ein mit ^{125}J hochradioaktiv markiertes Thyroxinanalogen, das zwar mit dem Antiserum, nicht aber mit den Bindungsproteinen in Kontakt tritt.

Während der Testdurchführung reagiert das radioaktive Derivat mit der Serumprobe und der Antikörpersuspension nahezu unter den Gleichgewichtsbedingungen, die für den klassischen RIA gefunden werden. Die Menge der eingesetzten Reagenzien kann sehr gering gehalten werden. Dementsprechend klein ist auch der Entzug von FT4 aus der Probe (ca. 1-2 %); das Gleichgewicht zwischen proteingebundenem und freiem Thyroxin wird nur unwesentlich verändert (32). Die Durchführung ist aufgrund der kurzen Gesamttestdauer von nur zwei Stunden und der Fest-Phasen-Technik sehr bequem.

1.5. Problemstellung

In unserer Studie wollten wir den erst seit Anfang 1981 im Handel erhältlichen Amerlex FT4 RIA kit mit dem FT4I und dem Thyroxin/TBG-Quotienten vergleichen und seine Wertigkeit in der klinischen Schilddrüsendiagnostik untersuchen.

Dabei war es natürlich nicht möglich, Veränderungen des Trijodthyronins (T3), wie etwa eine sogenannte T3-Hyperthyreose mitzufassen.

2. Material und Methoden

2.1. Patientenkollektiv

Unser Testkollektiv umfaßte 337 Männer und Frauen im Alter von 18 - 76 Jahren, die sich teils in der endokrinologischen, teils in der gynäkologischen Ambulanz des Klinikums Großhadern in München vorstellten. Bei allen Probanden unserer Studie wurde anamnestisch sichergestellt, daß keine ernste Allgemeinerkrankung vorlag und keine Behandlung mit Medikamenten erfolgte, die die Schilddrüsen - in vitro -Diagnostik beeinflussen (38, 40, 47). Das galt in besonderem Maße für eine Thyroxinmedikation, welche erhebliche Effekte auf die Bestimmung des freien T4 aufweist (25, 28). 49 Probanden waren anamnestisch, klinisch und laborchemisch schilddrüsen-gesund und wurden als Kontrollpersonen bezeichnet. Ebenfalls keine erkennbare Störung der Schilddrüsenfunktion lag bei den 66 Graviden vor, von denen sich 32 im zweiten, 34 im dritten Trimenon befanden. Bei 222 Patienten bestand der Verdacht auf eine Erkrankung oder Funktionsstörung der Gl.thyroidea. In diesen Fällen wurden aufgrund der Klinik und der entsprechenden Zusatzuntersuchungen folgende Diagnosen gestellt: Struma diffusa: 88, Struma nodosa: 56, M.Basedow: 40, kompensiertes autonomes Adenom: 5, dekompenziertes autonomes Adenom: 21, endokrine Ophthalmopathie: 12.

2.2. Gesamt-Thyroxin-Bestimmung und TRH-Test

Bei allen 337 Patienten wurde routinemäßig das Gesamt-Thyroxin im Serum nach einer enzymimmunologischen Methode bestimmt (T4-EIA, SYVA Comp., Palo Alto, U.S.A.). Der Normbereich liegt zwischen 4 und 10 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$. Die Variationskoeffizienten (VK) der Methode errechneten sich zu 11,2 % bei einem Mittelwert ($\bar{x}$) von 3,6 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$, zu 4,5 % bei einem $\bar{x}$ von 8,5 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ und zu 4,6 % bei einem $\bar{x}$ von 12,0 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$.

Eine Stimulation der TSH-Sekretion durch intravenöse TRH-Zufuhr (TRH-Test) war nur bei den 222 Patienten mit vermutlichen Schilddrüsenanomalien indiziert und wurde deshalb bei den Kontrollpersonen und den Schwangeren nicht durchgeführt. Die TSH-Spiegel 30 Minuten nach Injektion von 200 μg TRH i.v. wurden radioimmunologisch mit Kits von Henning, Berlin, gemessen. Der Normbereich wird für das basale TSH mit 0 - 5 $\mu\text{U/ml}$ und für Δ -TSH mit 2,5 - 25 $\mu\text{U/ml}$ angegeben. Die Variationskoeffizienten (VK) für diese Bestimmungen lagen bei 10,9 % für einen Mittelwert ($\bar{x}$) von 1,7 $\mu\text{U/ml}$ und bei 5,8 % für ein $\bar{x}$ von 12 $\mu\text{U/ml}$.

Beide Analysen wurden im Bereich Endokrinologie und Stoffwechselchemie (Prof. Dr. W.Vogt) des Instituts für Klinische Chemie (Direktor Prof. Dr. M.Knedel), Klinikum Großhadern der Universität München, ausgeführt. Aus diesem Grund soll auf die Einzelheiten der praktischen Testprozedur hier nicht eingegangen werden.

2.3. Klassifizierung der Patienten

Um die diagnostische Wertigkeit der Verfahren zur direkten und indirekten Bestimmung des freien Thyroxins vergleichend beurteilen zu können, wurden die Patienten mit Verdacht einer Schilddrüsenfunktionsstörung aufgrund der Ergebnisse der Gesamt-Thyroxin-Messung und des TRH-Tests in drei Gruppen eingeteilt. Nicht berücksichtigt wurden hierbei Kontrollpersonen und Schwangere.

Tabelle 1 (Seite 15) zeigt die Klassifizierung der 222 verbleibenden Patienten in drei Schilddrüsenfunktionszustände.

Zugrundegelegt wurden hierbei die von den Herstellern angegebenen Normbereiche:

Sechzehn Probanden mit einem Gesamt-T4 kleiner

Tabelle 1

Klassifikation von 222 Patienten mit dem Verdacht einer Schilddrüsenfunktionsstörung nach dem Gesamt-T₄-Spiegel und dem TSH-Anstieg 30 min nach 200 µg TRH i.v. (Δ-TSH)

Klassifikation	n	T ₄ gesamt (µg/dl)	Δ-TSH (µU/ml)
präklinische und klinische Hypothyreose	16	kleiner 4	größer 25 bzw. TSH _{basal} größer 5
Euthyreose	154	größer 4	2.5 - 25
präklinische und klinische Hyperthyreose	52	größer 10	kleiner 2.5

4 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ und einem basalen TSH größer 5 $\mu\text{U}/\text{ml}$ bzw. einem TSH-Anstieg 30 Minuten nach TRH größer 25 $\mu\text{U}/\text{ml}$ wurden in der Gruppe "präklinische und klinische Hypothyreose" zusammengefaßt. Der Status der Euthyreose, dem 154 Patienten zugeordnet wurden, war durch ein Gesamt-T4 größer 4 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ und ein Delta-TSH 30 Minuten nach TRH von 2,5 bis 25,0 $\mu\text{U}/\text{ml}$ definiert. Als "präklinisch und klinisch hyperthyreot" wurden 52 Patienten eingestuft, die ein Gesamt-T4 größer 10,0 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ und einen TSH-Anstieg 30 Minuten nach TRH kleiner 2,5 $\mu\text{U}/\text{ml}$ aufwiesen.

2.4. Eigene Bestimmungen

Im Folgenden soll nur die praktische Durchführung der Tests besprochen werden. Bezüglich der Meßprinzipien sei auf die entsprechenden Abschnitte der Einleitung verwiesen.

2.4.1. Seren und Geräte

Die Patientenseren wurden, sofern die Analysen nicht kurz nach der Blutentnahme ausgeführt werden konnten, portioniert und bei -30°C tiefgefroren gelagert. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren wurde vermieden. Vor der Verwendung in den Assays wurden die Seren sorgfältig durchmischt.

Zur Abmessung der jeweiligen Volumina fanden nur Eppendorf-Pipetten und die reproduzierende Dosiervorrichtung "Multipette 4780" -ebenfalls von Eppendorf- Verwendung. Alle notwendigen Zentrifugationsschritte wurden mit einem Gerät von Heraeus-Christ, Typ 4121, ausgeführt.

Für die photometrischen Bestimmungen benutzten wir das Beckman Spectrophotometer, Modell 24. Die Impulsraten zur Auswertung der radioimmunologischen Messungen wurden in einem Szintillationszähler des Typs Gamma-szint BF 5 300 ermittelt und mit Hilfe des angeschlossenen Schreibers "Teletype" ausgedruckt.

2.4.2. Totaler Bindungsindex (TBI)

Die Packung des Enzymun-Test TBK von Boehringer, Mannheim, enthält folgende numerierte Reagenzien:

- 1 Inkubationspuffer,
- 2 a Thyroxin-Peroxidase-Konjugat,
- 2 b Thyroxin,
- 3 Substrat-Puffer,
- 4 Substrat,
- 5 a+b Standards,
- 6 Kontrollserum,

sowie Kunststoffröhrchen, die mit Anti-Thyroxin-Antikörpern (Kaninchen) beschichtet sind; Bindungskapazität: ca. 260 fmol T₄/Röhrchen.

Vor der Testdurchführung müssen aus den einzelnen Reagenzien die gebrauchsfertigen Lösungen hergestellt werden. Zu diesem Zweck löst man den Inhalt der Flaschen 1 und 3 in jeweils etwa 100 ml destilliertem Wasser. Zur besseren Durchmischung empfiehlt es sich, einen Magnetrührer zu verwenden. Zu den Fläschchen 2 a+b, 5 a+b und 6 gibt man jeweils 0,5 ml aqua dest.

Die Inkubationslösung 1 a besteht aus dem Inhalt der Flaschen 1, 2 a+b und enthält folgende Substanzen: Barbitalpuffer: 120 mmol/l, pH 8,6; Rinderserumalbumin (RSA): 0,20 %; POD: ca. 6 U/l; T₄ im Konjugat: ca 50 nmol/l; T₄: 360 nmol/l. Die Substrat-Pufferlösung 3 a entsteht durch Zugabe von Reagenz 4 zu Flasche 3; es liegen folgende Konzentrationen vor:

Phosphat-Citrat-Puffer: 100mmol/l, pH 5,0;
ABTS (Chromogen): 14 mmol/l; H₂O₂ (Natriumperborat): 1,47 mmol/l. Die Standards (Fläschchen 5 a+b) und das Kontrollserum (Fläschchen 6) bestehen aus lyophilisiertem Humanserum und müssen nach Zugabe des destillierten Wassers für 10 Minuten stehen gelassen werden. Die TBI-Werte werden wie folgt angegeben: Standard 5 a: 1,50; Standard 5 b: 0,60; Kontrollserum: 1,06 $\pm$ 0,21. Alle Lösungen wurden nach der Herstellung auf Raumtemperatur gebracht

und sofort verwendet. Die zulässigen Aufbewahrungszeiten können der mitgelieferten Testanleitung entnommen werden.

In die fortlaufend nummerierten Röhrchen pipettiert man zuerst jeweils 0,01 ml Standard, Kontrollserum oder Patientenserum, wobei für Standards und Kontrollserum Dreifach-, für die Proben Doppelbestimmungen angeraten werden. Dann fügt man zu allen Röhrchen 1,0 ml der Lösung 1 a hinzu. Dabei sollen die einzelnen Pipettierungen möglichst rasch aufeinander folgen, damit die daran anschließende zweistündige Inkubationszeit für alle Röhrchen in etwa gleich lang ist; außerdem muß auf eine ausreichende Vermischung von Reagenz und Probe geachtet werden. Die Inkubationstemperatur muß zwischen 20 und 25°C liegen. Nach Ablauf der 120 Minuten werden die Röhrchen dekantiert und mit gekühltem Leitungswasser (Temperatur: 2 - 8°C) gespült. Die Waschlösung darf höchstens 5 Minuten in den Röhrchen verbleiben und muß dann sorgfältig entfernt werden. Wir stellten zu diesem Zweck die Röhrchen nach dem Dekantieren für zwei Minuten mit der Öffnung nach unten auf Löschpapier. Für die folgende Indikatorreaktion muß in alle Röhrchen 1,0 ml der Lösung 3 a eingefüllt werden. Die einzelnen Pipettierungen müssen in konstanten Zeitintervallen ausgeführt werden, damit für alle Röhrchen eine gleiche Inkubationszeit (60 Minuten) zur Farbstoffbildung gewährleistet ist. Bestimmend für den Abstand der einzelnen Pipettierungen ist die Zeit, die für die photometrische Messung pro Röhrchen benötigt wird. Während der Redoxreaktion sollen die Röhrchen wegen der Labilität des H_2O_2 nicht

geschüttelt und nicht der direkten Sonnenbestrahlung ausgesetzt werden. Nach einer Stunde Inkubation bei $20 - 25^{\circ}\text{C}$ wird der Röhrcheninhalt gut durchmischt und in eine Halbmikroküvette mit 1 cm Schichtdicke überführt. Die photometrische Messung der Farbstoffkonzentration erfolgt gegen Lösung 3 a bei einer Wellenlänge von 405 nm. Tabelle 2 (Seite 20) zeigt nochmals zusammenfassend das Vorgehen bei der TBI-Bestimmung.

Für die Auswertung müssen aus den einzelnen gemessenen Extinktionswerten (E_i) die arithmetischen Mittel ($\bar{E}$) und deren Reziprokwerte ($1/\bar{E}$) berechnet werden. Auf Millimeterpapier werden die reziproken Mittelwerte $1/\bar{E}$ (Ordinate) gegen die TBI-Werte (Abszisse) aufgetragen (siehe Abb. 1, Seite 21).

Die Punkte der beiden Standards bestimmen den Verlauf der Bezugsgeraden. Über diese Eichgerade kann man aus den Kehrwerten $1/\bar{E}$ der Proben die gesuchten TBI-Werte ablesen. Bei der Qualitätskontrolle ergab sich ein Variationskoeffizient (VK) von 6,5 % bei einem Mittelwert ($\bar{x}$) von 1,06.

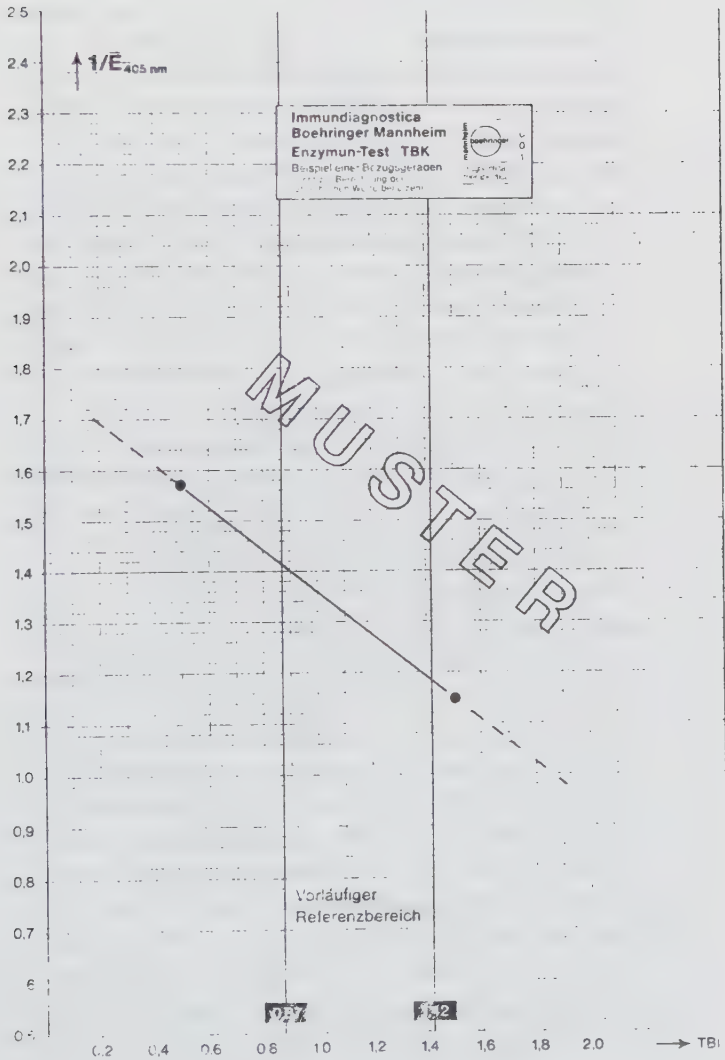
Tabelle 2

Vorgehen bei der TBI-Bestimmung

Nr.d.Röhrchen	Standards		Kontroll- serum	Proben
	1 - 3	4 - 6	7 - 9	10,11 ...
Lösung 5 a	je 0,01 ml	—	—	—
Lösung 5 b	—	je 0,01 ml	—	—
Lösung 6	—	—	je 0,01 ml	—
Patientenserum	—	—	—	je 0,01 ml
Lösung 1 a	je 1,0 ml	je 1,0 ml	je 1,0 ml	je 1,0 ml
	2 Stunden bei 20 - 25°C inkubieren dekantieren und mit gekühltem Leitungswasser (2 - 8°C) spülen in konstanten Zeitintervallen Lösung 3 a zugeben			
Lösung 3 a	je 1,0 ml	je 1,0 ml	je 1,0 ml	je 1,0 ml
	ca. 60 min bei 20 - 25°C inkubieren Röhrcheninhalt durchmischen Photometer mit Lösung 3 a auf Null abgleichen Extinktionen bei 405 nm in konstanten Zeitintervallen messen			

Abbildung 1

Muster einer TBI-Eichkurve



2.4.3. TBG-Radioimmunoassay

Der Reagenziensatz TBG-RIAcid von Henning, Berlin, enthält folgende Komponenten:

- A Phosphatpuffer: 0,05 mol/l, pH 7,4; gebrauchsfertig.
 - B TBG-Antiserum (Kaninchen) lyophilisiert.
 - C Präzipitierendes Antiserum (Anti-Kaninchen-Gamma-Globulin, Ziege); gebrauchsfertig.
 - D Tracerlösung: ^{125}J -TBG in Phosphatpuffer, 0,05 mol/l, pH 7,4; Aktivität: ca. 150 kBq entsprechend ca. 35 000 IPM/100 μl ; spezifische Aktivität: 35 - 50 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$; gebrauchsfertig.
- 1-6 TBG-Standards in den Konzentrationen 2,5; 5; 10; 20; 40; 80 mg/l; gebrauchsfertig.

Die Haltbarkeit des Reagenziensatzes wird vom Zerfall des radioaktiven Tracers limitiert; sie beträgt maximal 6 Wochen.

Vor der Testdurchführung muß das lyophilisierte Antiserum (Flasche B) durch Zugabe des Phosphatpuffers aus Flasche A rekonstituiert werden. Die TBG-Standards durchmischt man auf einem Vortex-Mixer; sie werden wie alle anderen Reagenzien bei Raumtemperatur pipettiert.

Die Röhrchen wurden ihrem Inhalt entsprechend gekennzeichnet: "T" zur Messung der Totalaktivität des Tracers; "O" für die Ermittlung der Bindungskapazität des Antiserums und " S_{1-6} " für die TBG-Standards 1-6. Die Röhrchen für die Proben wurden fortlaufend nummeriert.

Ähnlich wie beim TBI-Ansatz wurden für die Proben Doppel-, für Standards, Bindungs-

kapazität und Totalaktivität Dreifachbestimmungen durchgeführt. Die Teströhrchen "T" und "O" bleiben zunächst leer. In die Röhrchen "S₁₋₆" und die numerierten Analysenröhrchen pipettiert man jeweils 0,01 ml der TBG-Standards in steigender Konzentration bzw. 0,01 ml Patientenserum. Dann setzt man zu allen Röhrchen 0,1 ml Tracerlösung zu. Die Teströhrchen "T" werden bis zur Messung der Radioaktivität der weiteren Bearbeitung entzogen. Alle übrigen Röhrchen werden mit 0,1 ml TBG-Antiserum versetzt. Die Reagenzien müssen gut vermischt werden. Es empfiehlt sich die Verwendung eines Vortex-Mixers. Anschließend wird für ca. 30 - 45 Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25°C) inkubiert. Die Inkubationszeit kann bis zu zwei Stunden ausgedehnt werden. Danach gibt man zu allen Teströhrchen 0,1 ml präzipitierendes Antiserum zu, mischt und inkubiert erneut für 30 bis maximal 60 Minuten bei 20 - 25°C. Nach Ablauf dieser Zeit pipettiert man in alle Röhrchen 2 ml destilliertes Wasser. Nachfolgend zentrifugiert man möglichst in einem Durchgang alle Röhrchen für 10 Minuten bei 2500 g. Der Überstand wird dekantiert, und die Röhrchenwände werden mit Hilfe von Wattestäbchen getrocknet, um die Reste der gelösten Radioaktivität zu entfernen. Es ist darauf zu achten, daß der am Röhrchenboden eben sichtbare Niederschlag bei dieser Prozedur nicht in Mitleidenschaft gezogen wird. Danach wird die verbliebene Radioaktivität eines jeden Röhrchens, einschließlich "T", 1 Minute lang im Gamma-Counter gemessen. Tabelle 3 (Seite 25) gibt nochmals einen

Überblick über die einzelnen Schritte des TBG-Assays.

Bei der Auswertung wird die mittlere Impulsrate jeder einzelnen Analyse (B) auf die mittlere Impulsrate der Nullprobe (B_0) bezogen und in Prozent ausgedrückt. Im Falle der Nullprobe gilt: $B/B_0 = 100 \%$. Auf semilogarithmischem Millimeterpapier wird aus den errechneten Prozentwerten B/B_0 der Standardproben (Ordinate) und den zugehörigen TBG-Konzentrationen (Abszisse, logarithmisch) eine Standardkurve gezeichnet (siehe Abb. 2, Seite 26). Der TBG-Gehalt unbekannter Seren wird anhand der jeweiligen Prozentwerte B/B_0 über die Eichkurve direkt in mg TBG/l Serum abgelesen. Zur Kontrolle der Bindungskapazität des TBG-Antiserums wird der Quotient B_0/T gebildet, und mit 100 multipliziert. Unter den angegebenen Analysenbedingungen sollte B_0/T zwischen 40 und 80 % liegen. Der Variationskoeffizient (VK) dieser Bestimmung liegt für ein $\bar{x}$ von 21,5 mg/l bei 7,4 %.

2.4.4. Amerlex FT4 RIA

Folgende Reagenzien sind in der Packung des Amerlex FT4 RIA kit von Amersham Buchler, Braunschweig, enthalten:

- 1 Flasche ^{125}J -Thyroxin-Derivat-Lösung, Farbe "rot"; Radioaktivität nicht mehr als 370 kBq; gebrauchsfertig.
- 1 Flasche Amerlex T4-Antikörper-Suspension, Farbe "blau"; gebrauchsfertig.
- 7 Fläschchen Freies-T4-Standards in Humanserum; Konzentration: 0; 0,46; 0,95; 1,9; 4,87; 9,0 ng/100 ml; lyophilisiert.

Tabelle 3

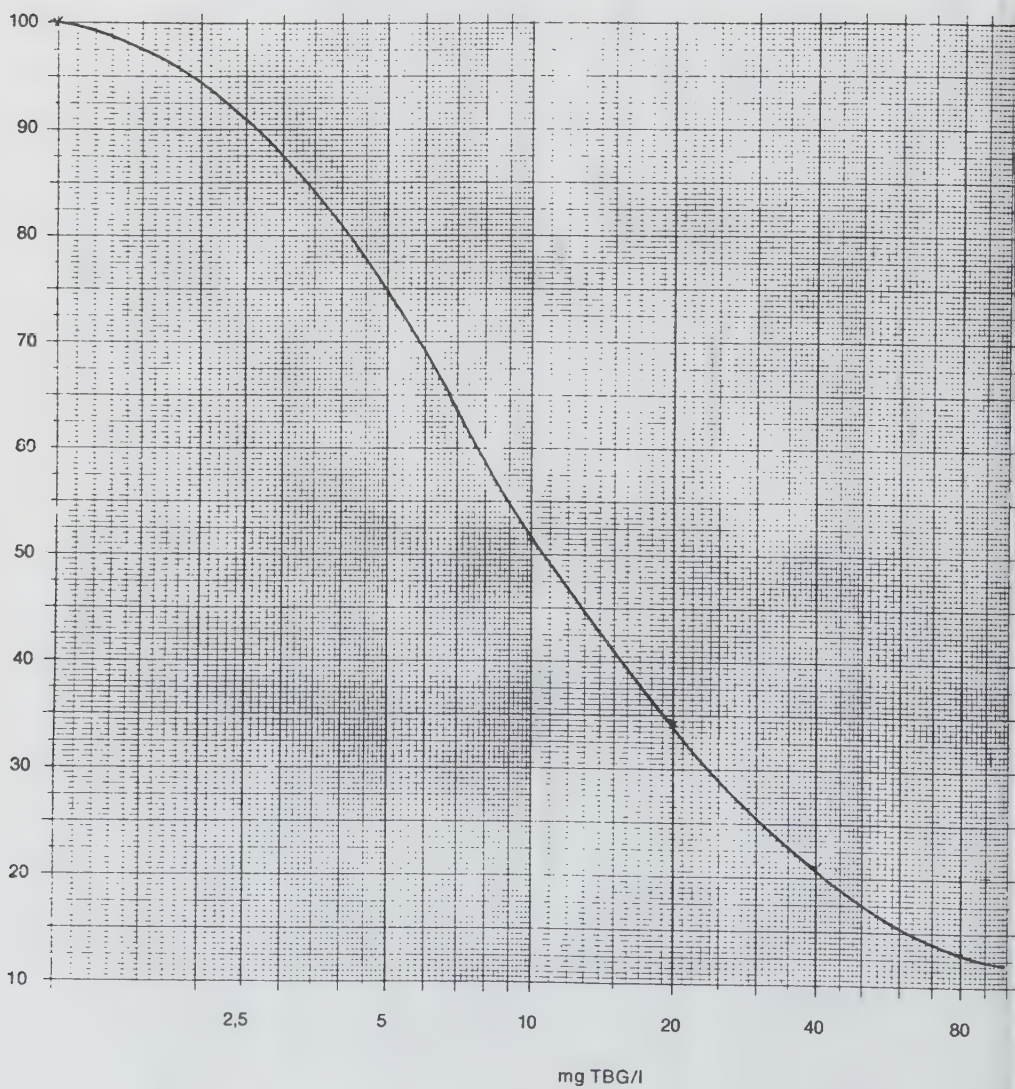
Kurzanleitung für den TBG-Assay

Bezeichnung der Röhrchen	Total- aktivität *	Null- probe *	Standards *						Proben	
			S ₁ (25 mg/l)	S ₂ (50 mg/l)	S ₃ (100 mg/l)	S ₄ (200 mg/l)	S ₅ (400 mg/l)	S ₆ (800 mg/l)	1/2	...
TBG-Standard 1-6	—	—	0,01 ml	0,01 ml	0,01 ml	0,01 ml	0,01 ml	0,01 ml	—	
Patientenserum	—	—	—	—	—	—	—	—	0,01 ml	
Tracerlösung	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	
TBG - Antiserum	—	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	
	Röhrcheninhalt mischen und 30 min bei 20–25° C inkubieren									
präzipitierendes Antiserum	—	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	
	mischen und 30 min bei 20–25° C inkubieren									
dest. Wasser	—	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml	
	10 min bei 2500 g zentrifugieren, Überstand dekantieren und Röhrchen austrocknen									
	Radioaktivität 1 min im Gamma-Counter messen									

* Dreifachbestimmungen

Abbildung 2

B/B_0 (%) Typische TBG-Standardkurve



Zusätzlich verwendeten wir die Amersham Kontrollseren 1,2 und 3 für die Schilddrüsenfunktionsdiagnostik (angegebene Konzentrationen: 0,15; 1,1; 2,4 ng/100 ml).

Die gefriergetrockneten Standards und Kontrollseren müssen vor Testbeginn durch Zugabe von je 1,0 ml destilliertem Wasser rekonstituiert werden. Der Lösungsvorgang nimmt etwa 10 Minuten in Anspruch. Während dieser Zeit sollen die Fläschchen mehrmals leicht geschwenkt werden. Alle Reagenzien müssen Raumtemperatur annehmen.

Die Teströhrchen wurden nach dem Muster des TBG-Assays gekennzeichnet. Allerdings entfällt hier die Messung der Totalaktivität des Tracers. Auch beim FT4-RIA bestimmten wir Standards und Kontrollseren dreifach, die Proben doppelt. Wie im Pipettierschema (Tab. 4, Seite 28) dargestellt, gibt man zuerst je 0,1 ml Standard, Kontrollserum bzw. Patientenserum in die entsprechenden Röhrchen. Anschließend pipettiert man in alle Röhrchen 0,5 ml radioaktives Thyroxin-Derivat (Farbe: rot). Die Amerlex T4-Antikörper-Suspension muß unmittelbar vor dem Gebrauch durch vorsichtiges Schütteln homogenisiert werden. Dann fügt man möglichst schnell zu allen Teströhrchen 0,5 ml des Antiserums hinzu. Auf einem Schüttel-Mixer wird der Röhrcheninhalt, der jetzt einen violetten Farbton zeigen muß, sorgfältig durchmischt. Nachfolgend verschließt man die Röhrchen mit Plastikfilm und inkubiert sie für mindestens 60 Minuten im Wasserbad bei 37°C. Danach werden alle Teströhrchen gemeinsam 15 Minuten bei 2500 g zentrifugiert; der Überstand wird dekantiert und verworfen.

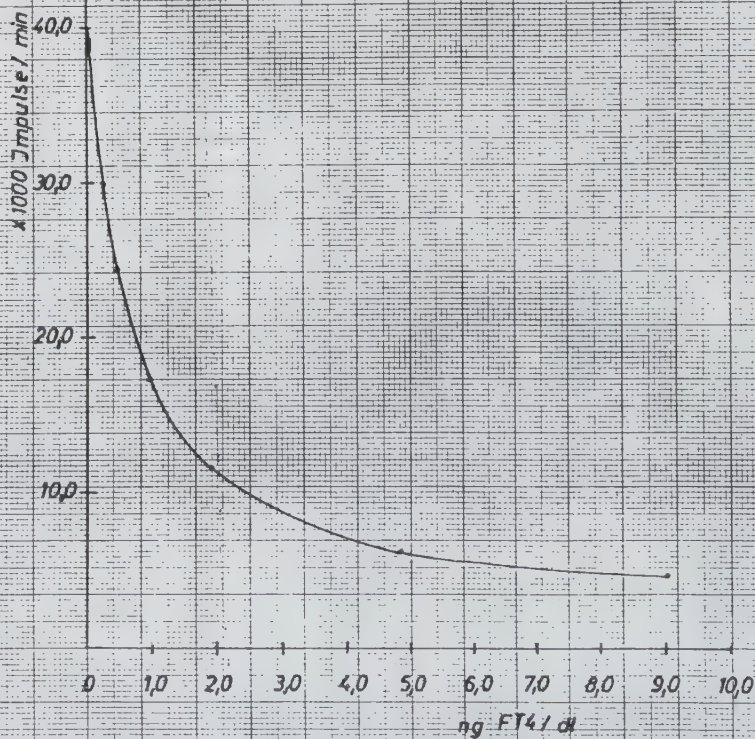
x Dreifachbestimmungen

Die Röhrchen beläßt man in der umgekehrten Position und trocknet die Innenwände unter Schonung des Niederschlages mit Wattestäbchen. Anschließend mißt man die im Präzipitat jeder Probe verbliebene Radioaktivität eine Minute lang im Gamma-Counter.

Bei der Auswertung müssen die Mittelwerte aus den Impulsraten der Mehrfachbestimmungen gebildet werden; sonst sind keine zusätzlichen Rechenschritte erforderlich. Die mittleren Zählraten der Standards (Ordinate) werden auf Millimeterpapier direkt gegen die FT4-Konzentrationen (Abszisse) aufgetragen. Mit einem Kurvenlineal zeichnet man die bestmögliche Kurve durch die Punkte (siehe Abb. 3, Seite 30). Über diese Eichkurve können aus den mittleren Impulsraten der Proben die gesuchten FT4-Spiegel abgelesen werden. Die Qualitätskontrolle ergab für das Kontrollserum 1 ($\bar{x} = 0,15 \text{ ng/100 ml}$) einen Variationskoeffizienten (VK) von 12,6 %, für das Kontrollserum 2 ($\bar{x} = 1,1 \text{ ng/100 ml}$) einen VK von 7,6 % und für das Kontrollserum 3 ($\bar{x} = 2,4 \text{ ng/100 ml}$) einen solchen von 9,0 %.

Abbildung 3

Beispiel einer FT4-Standardkurve



3. Ergebnisse

3.1. Resultate der TBG-Bestimmung

In Tabelle 5 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen, sowie die Minima, Maxima und Mediane der Serum-TBG-Konzentrationen in den einzelnen Patientengruppen dargestellt. Außerhalb der Gravidität schwanken die TBG-Spiegel um einen Wert von etwa 20 mg/l; ein signifikanter Unterschied bei den verschiedenen Schilddrüsenfunktionszuständen kann nicht festgestellt werden. Dagegen findet sich im zweiten und noch deutlicher im dritten Trimenon der Schwangerschaft ein Anstieg der mittleren TBG-Konzentration auf 39,4 bzw. 46,1 mg/l. Diese Ergebnisse stimmen gut mit den Werten anderer Autoren überein (9, 37).

Tabelle 5

Ergebnisse der TBG-Bestimmung (mg/l)

	n	Mittelwert	SD	Min.	Max.	Median
Kontrollpersonen	49	20,7	$\pm$ 6,0	10,8	39,1	20,1
Hypothyreose	16	18,7	$\pm$ 4,2	11,4	28,7	19,0
Euthyreose	154	20,7	$\pm$ 5,8	9,5	52,0	19,9
Hyperthyreose	52	21,3	$\pm$ 6,3	11,7	37,8	20,2
2. Trimenon	32	39,4	$\pm$ 9,8	29,6	61,2	38,9
3. Trimenon	34	46,1	$\pm$ 8,4	32,3	65,9	44,2

3.2. Korrelationen zwischen den verglichenen Verfahren

Zur Quantifizierung der Beziehungen unter den einzelnen Thyroxin-bestimmenden Verfahren erstellten wir Korrelationsdiagramme. Sie sind auf den folgenden Seiten getrennt nach den einzelnen Untergruppen dargestellt.

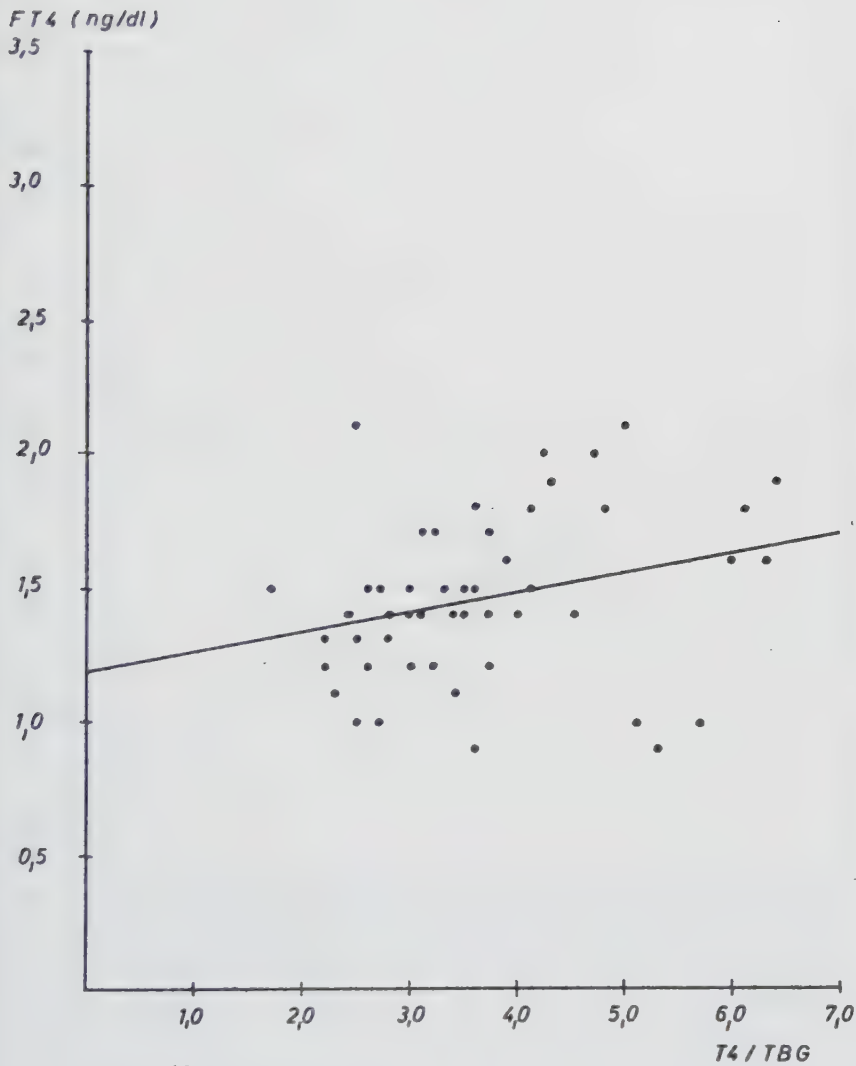
Die Abbildungen 4, 5 und 6 (Seite 33 - 35) zeigen die Korrelationen für die Gruppe der Kontrollpersonen. Die Korrelationskoeffizienten (cor) liegen für T4/TBG und FT4 bei 0,277, für FT4I und FT4 bei 0,452, für FT4I und T4/TBG bei 0,420.

Im hypothyreoten Bereich betragen die Werte der Korrelationskoeffizienten 0,079 für T4/TBG und FT4 (Abb. 7, Seite 36), 0,194 für FT4I und FT4 (Abb. 8, Seite 37) und 0,864 für FT4I und T4/TBG (Abb. 9, Seite 38).

Die entsprechenden Werte für die Euthyreose errechnen sich zu 0,460 in der Korrelation zwischen T4/TBG und FT4 (Abb. 10, Seite 39), 0,492 zwischen FT4I und FT4 (Abb. 11, Seite 40) und zu 0,700 zwischen FT4I und T4/TBG (Abb. 12, Seite 41).

Die Korrelationen für die Gruppe der Hyperthyreose sind in den Abbildungen 13, 14, und 15 (Seite 42 - 44) dargestellt. Die Korrelationskoeffizienten lauten 0,811 für T4/TBG: FT4, 0,839 für FT4I: FT4 und 0,673 für FT4I: T4/TBG. In der Gravidität ergeben sich folgende Koeffizienten: $cor = 0,090$ für T4/TBG: FT4 (Abb. 16, Seite 45), $cor = 0,202$ für FT4I: FT4 (Abb. 17, Seite 46) und $cor = 0,775$ für FT4I: T4/TBG (Abb. 18, Seite 47).

In Tabelle 6, Seite 48, sind noch einmal alle Korrelationskoeffizienten zusammengestellt.



$n = 49$

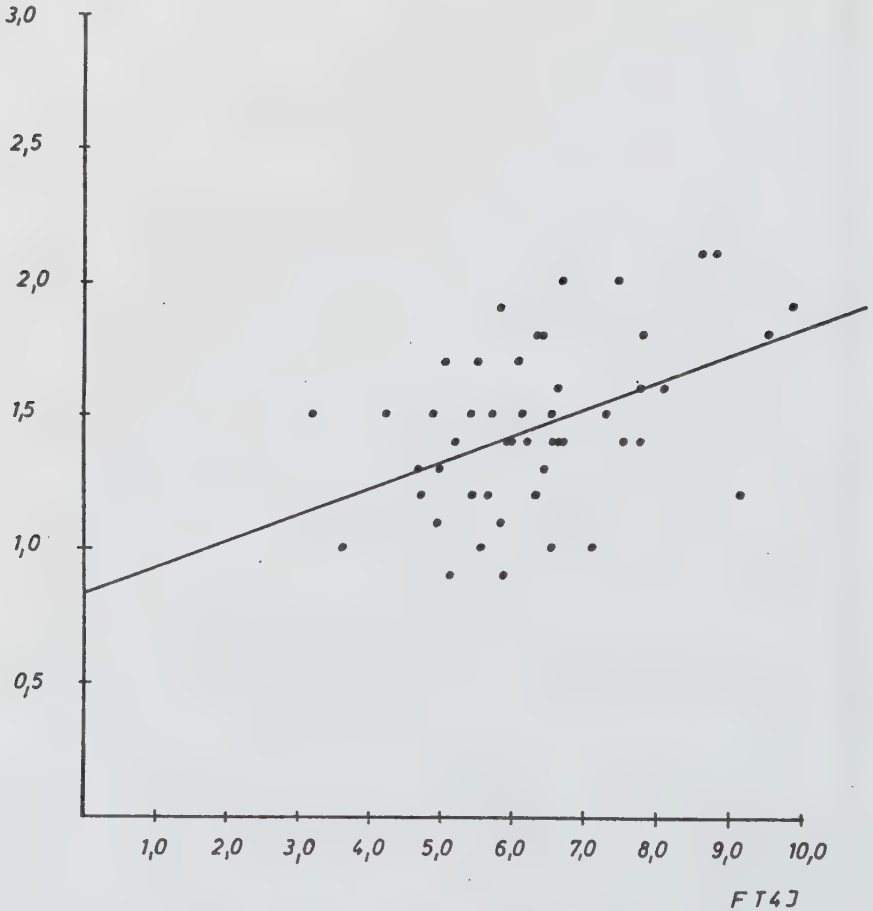
$cor = 0,277$

$y = 0,074 x + 1,188$

Abbildung 4

Korrelation zwischen T4/TBG-Quotient und FT4 in der Kontrollgruppe

FT4 (ng/dl)



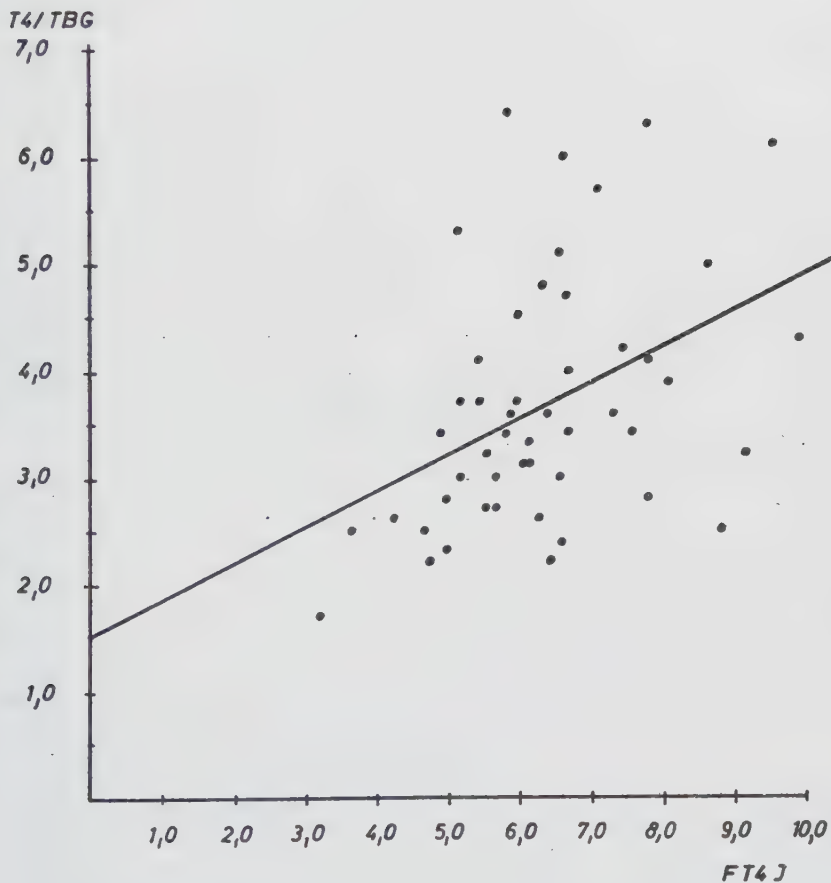
$n = 49$

$cor = 0,452$

$y = 0,098 x + 0,834$

Abbildung 5

Korrelation zwischen FT4I und FT4 in der Kontrollgruppe



$n = 49$

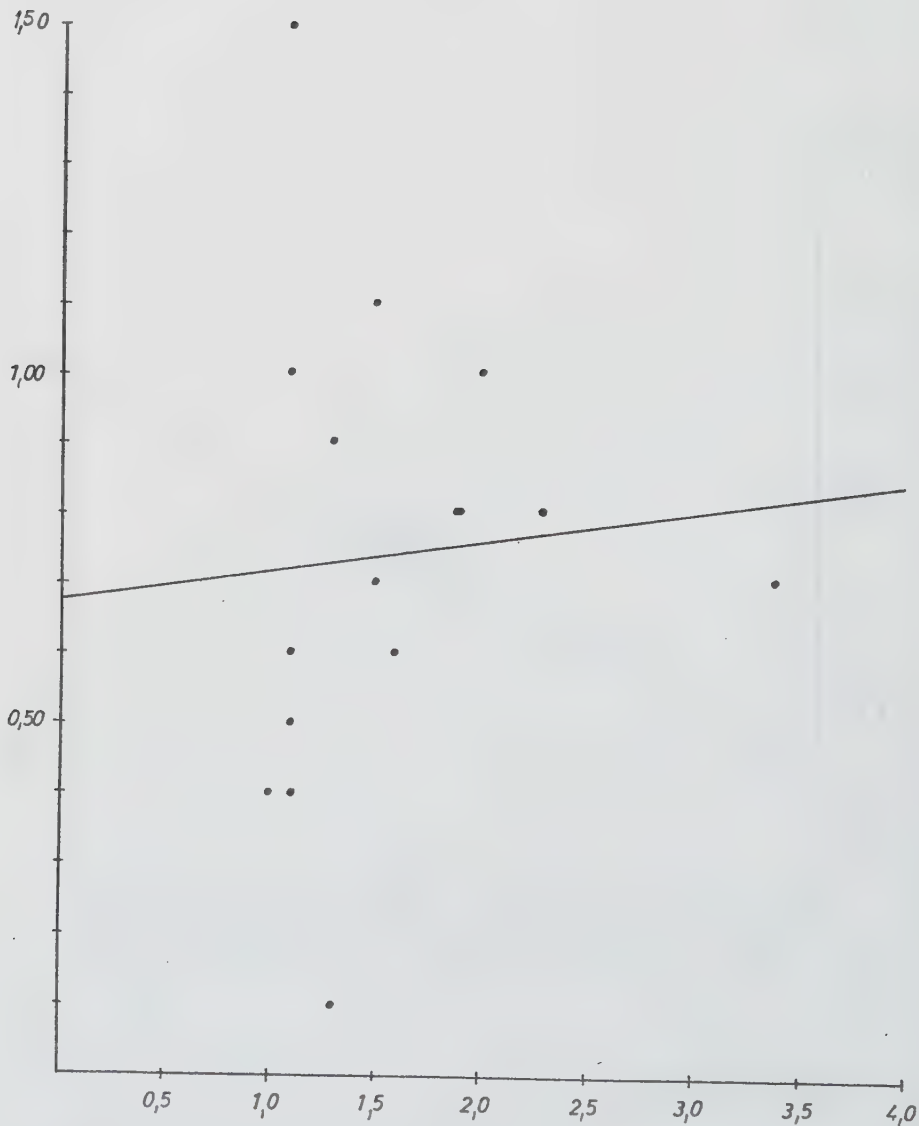
$cor = 0,420$

$y = 0,340 x + 1,5$

Abbildung 6

Korrelation zwischen FT4I und T4/TBG-Quotient in der Kontrollgruppe

FT4 (ng/dl)



n = 16

cor = 0,079

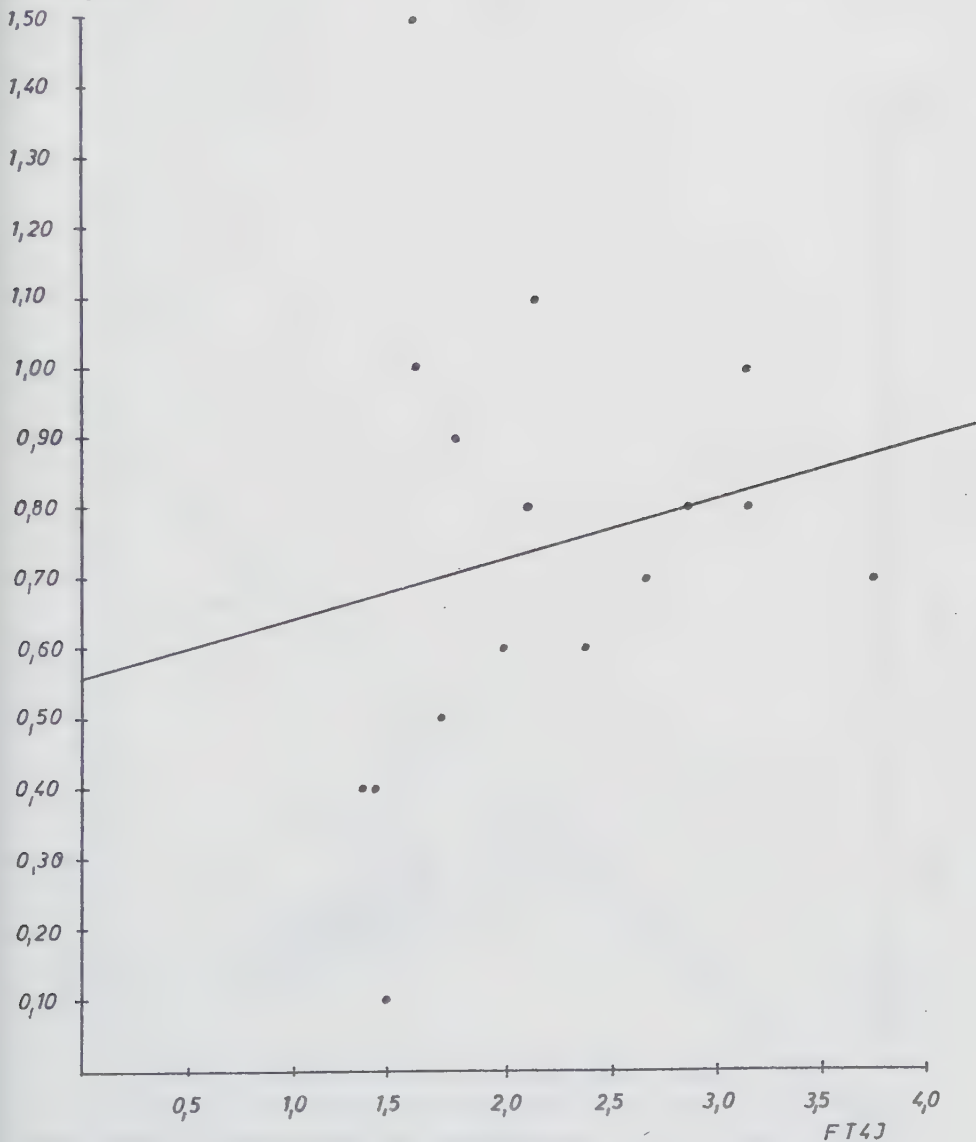
y = 0,042 x + 0,6772

T4/TBG

Abbildung 7

Korrelation zwischen T4/TBG-Quotient und FT4 in der Gruppe der Hypothyreose

FT4 (ng/dl)



$n = 16$

$cor = 0,194$

$y = 0,0858 x + 0,5567$

Abbildung 8

Korrelation zwischen FT4I und FT4 in der Gruppe der Hypothyreose

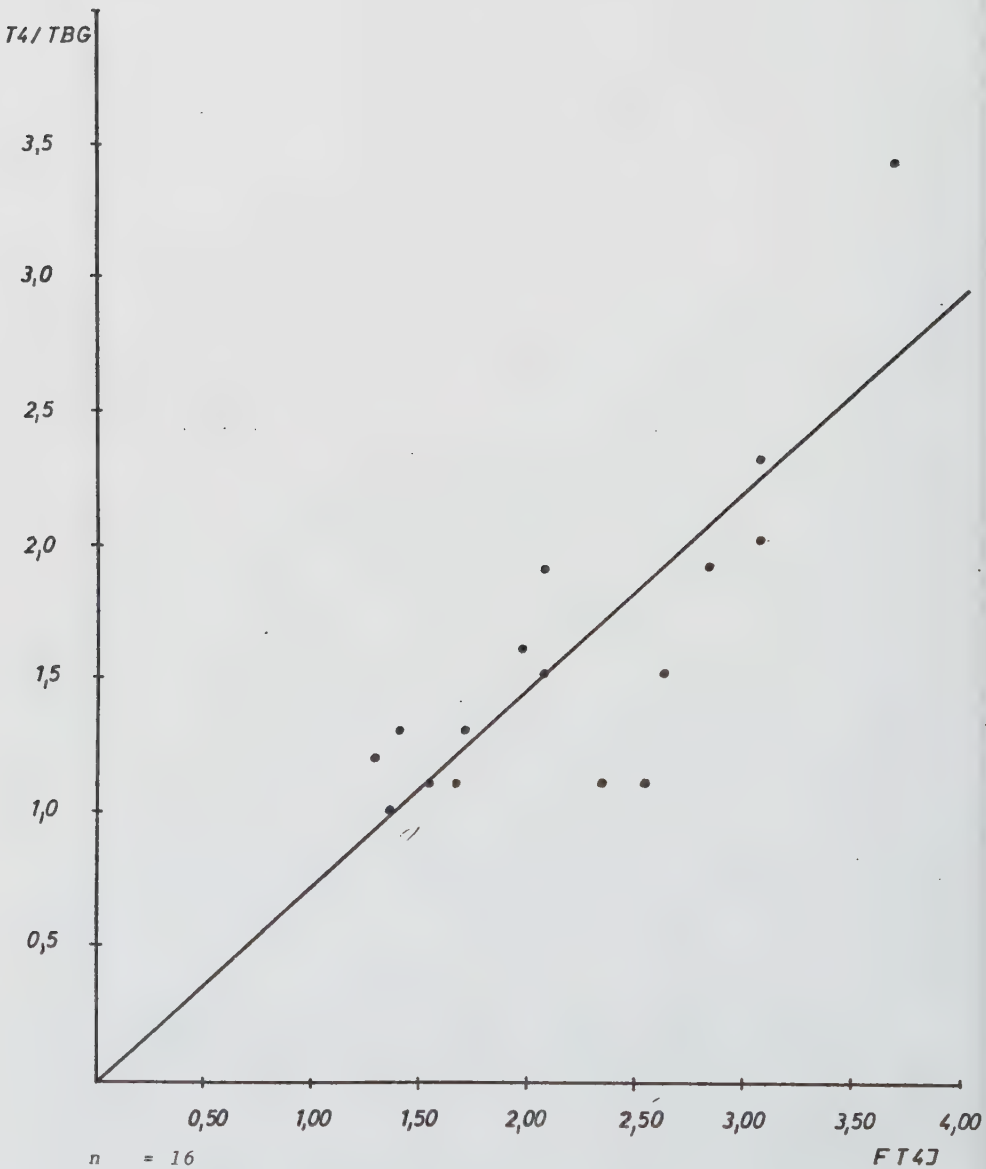
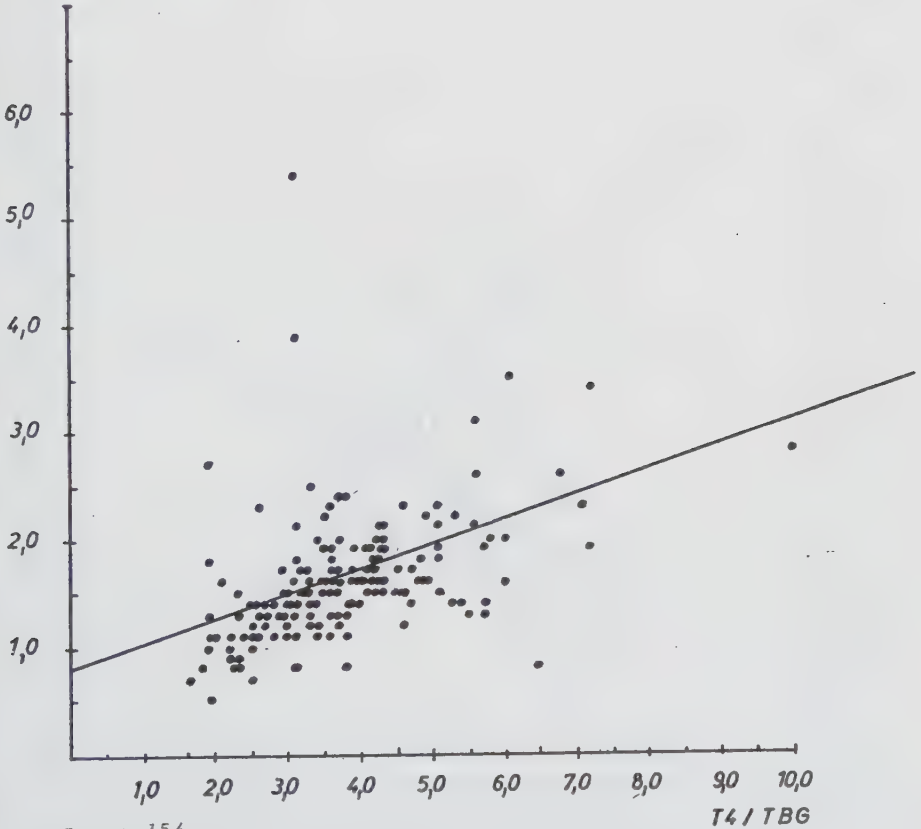


Abbildung 9

Korrelation zwischen FT4I und T4/TBG-Quotient in der Gruppe der Hypothyreose

FT4 (ng/dl)



$n = 154$

$cor = 0,460$

$y = 0,2275 x + 0,8009$

Abbildung 10

Korrelation zwischen T4/TBG-Quotient und FT4 in der Gruppe der Euthyreose

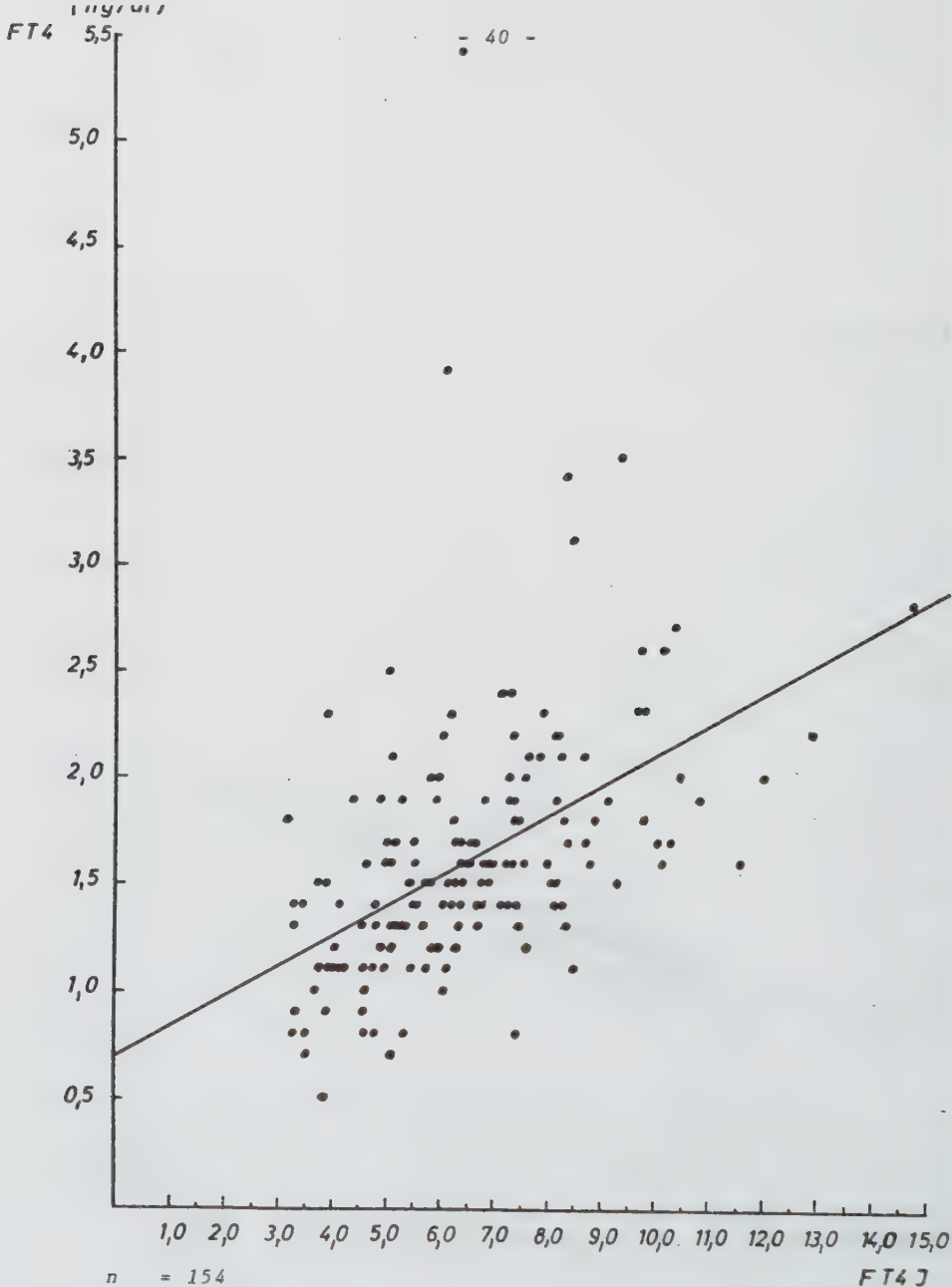


Abbildung 11

Korrelation zwischen FT4I und FT4 in der Gruppe der Euthyreose

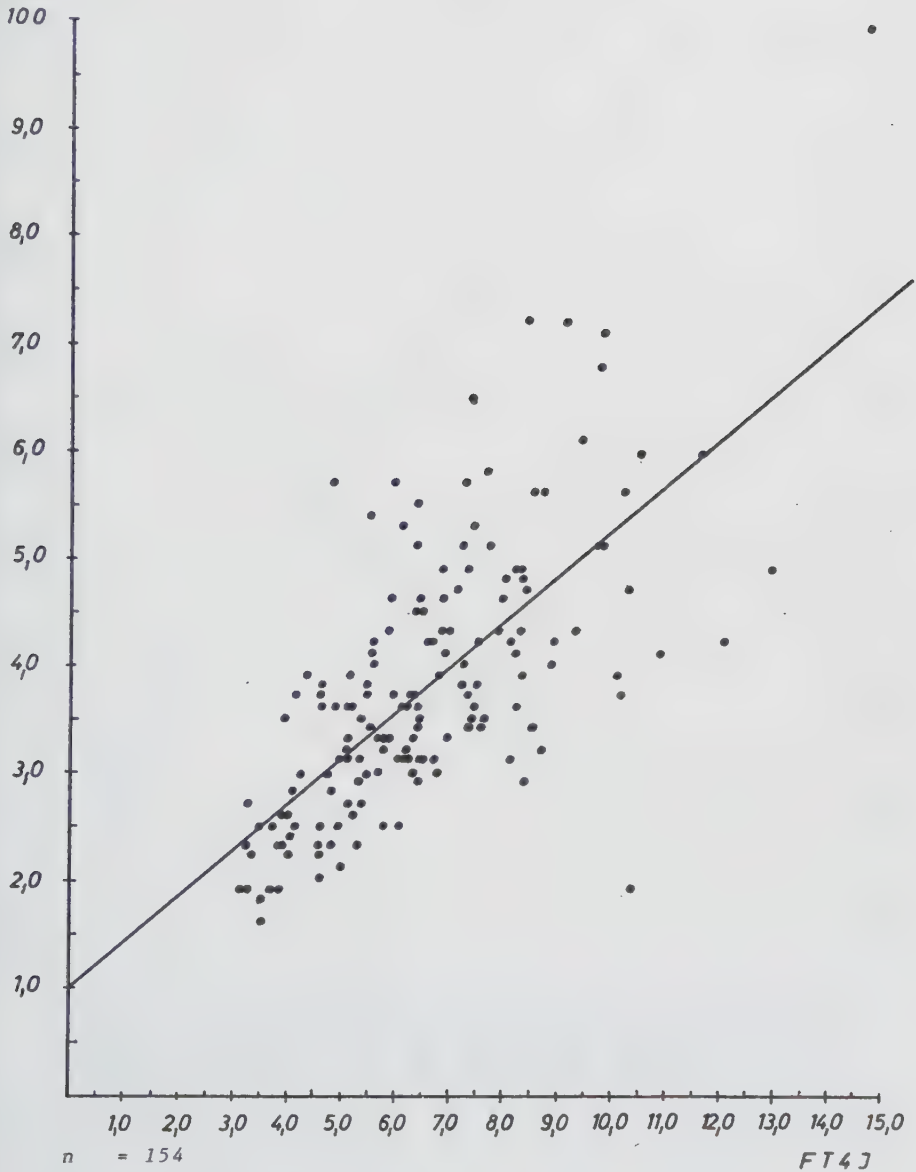


Abbildung 12

Korrelation zwischen FT4I und T4/TBG-Quotient in der Gruppe der Euthyreose

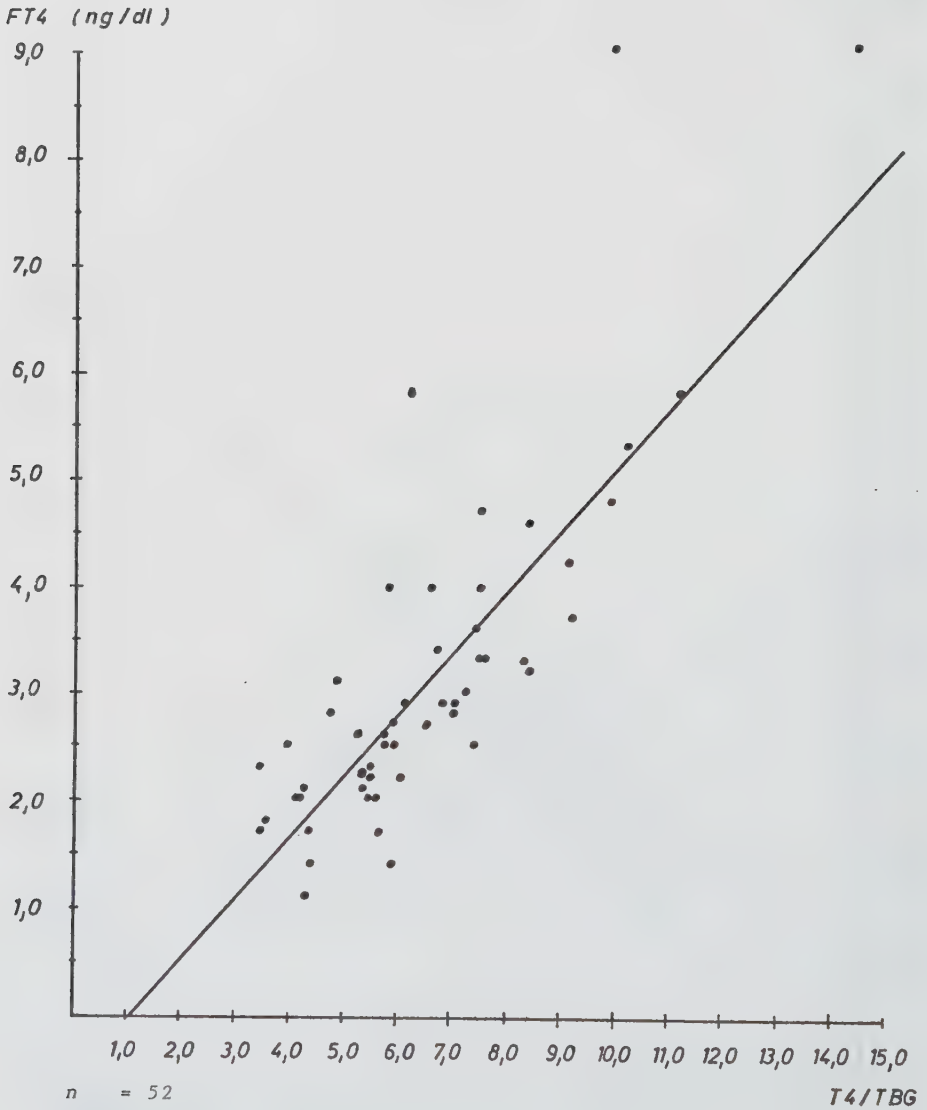
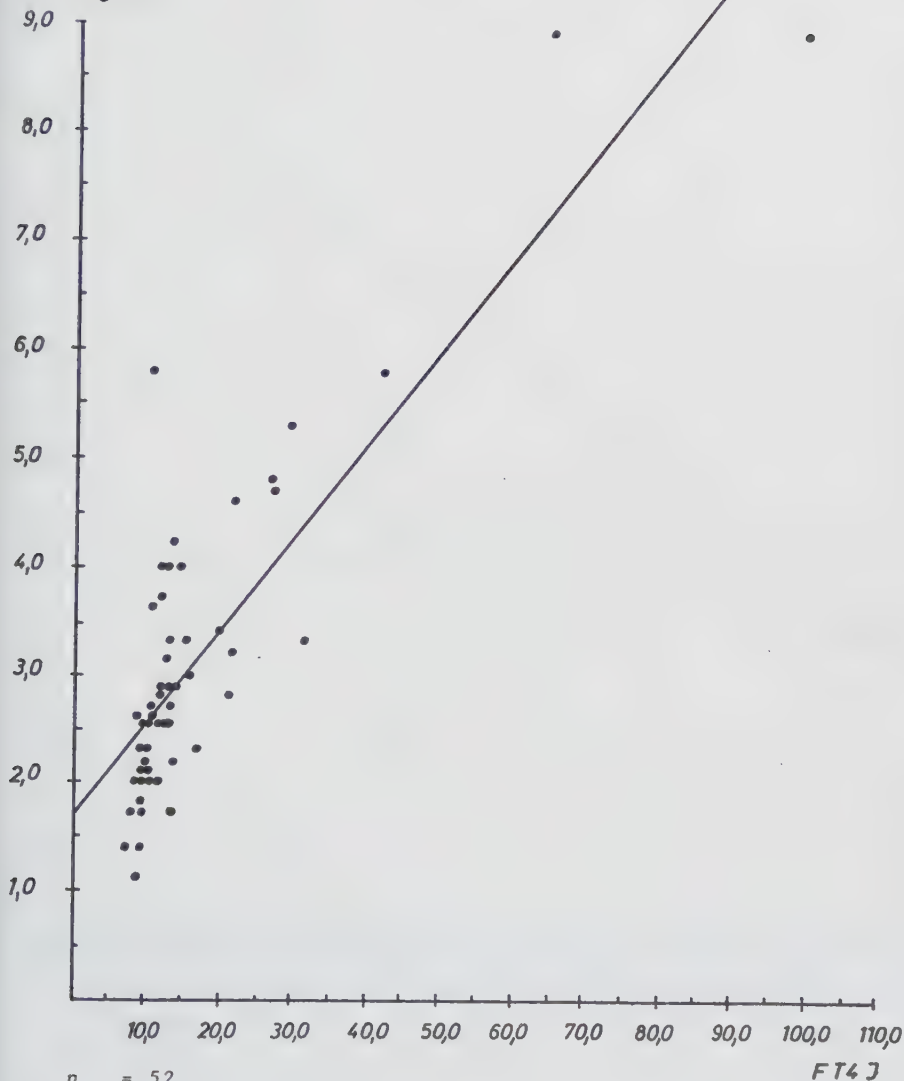


Abbildung 13

Korrelation zwischen T4/TBG-Quotient und FT4 in der Gruppe der Hyperthyreose

FT4 (ng / dl)



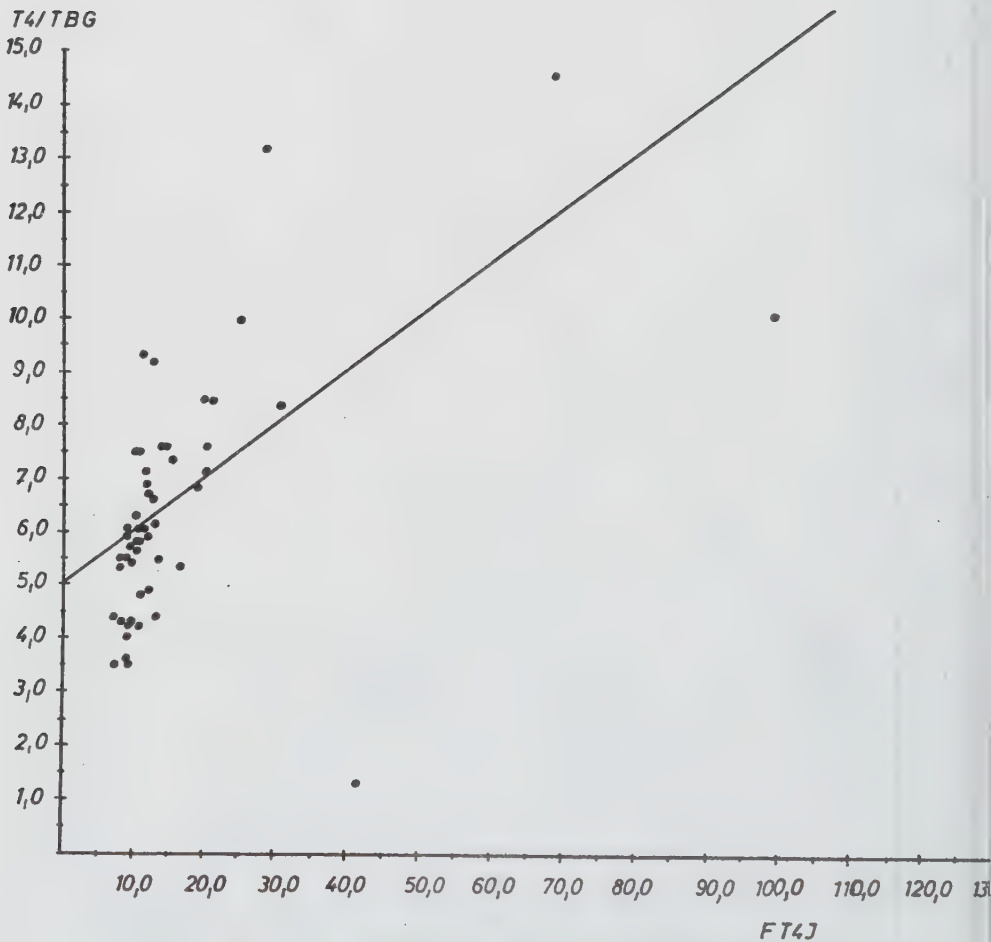
$n = 52$

$cor = 0,839$

$y = 0,0866 x + 1,737$

Abbildung 14

Korrelation zwischen FT4I und FT4 in der Gruppe der Hyperthyreose

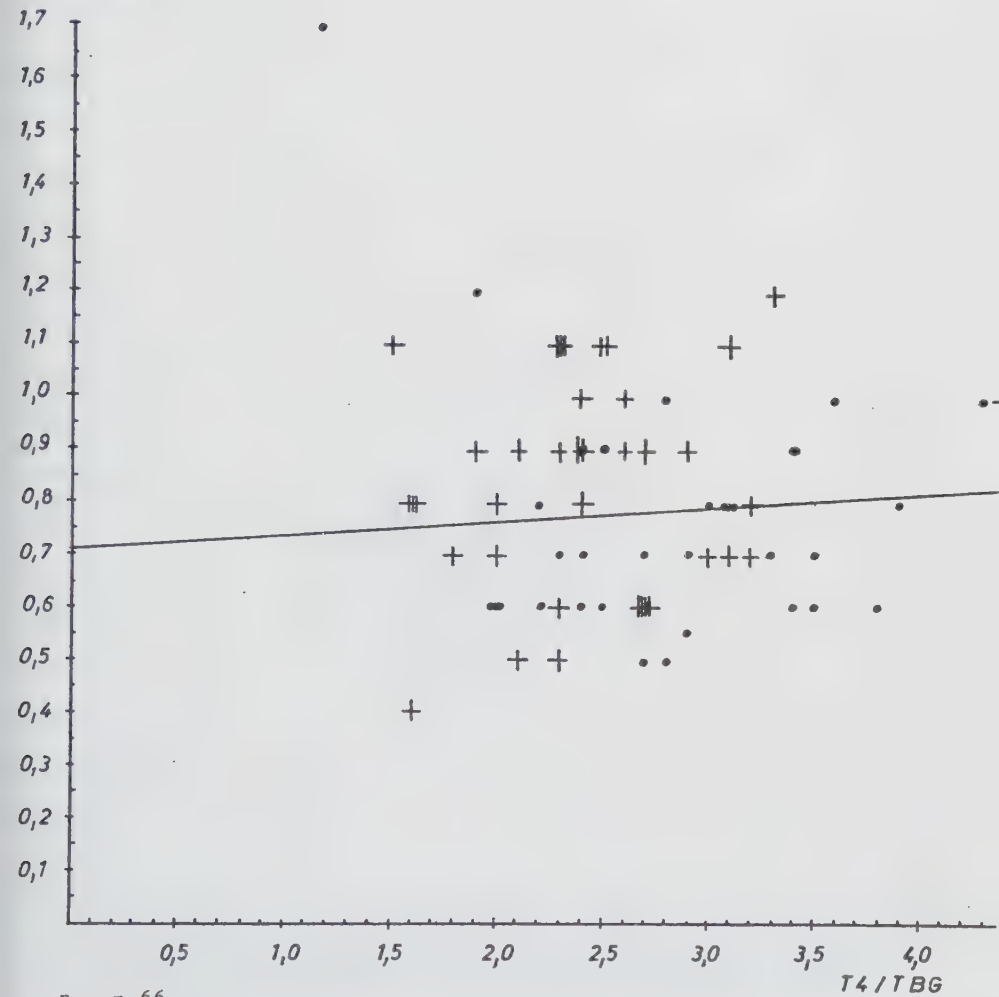


$n = 52$
 $cor = 0,673$
 $y = 0,0997 x + 4,997$

Abbildung 15

Korrelation zwischen FT4I und T4/TBG-Quotient in der Gruppe der Hyperthyreose

FT4 (ng/dl)



$n = 66$

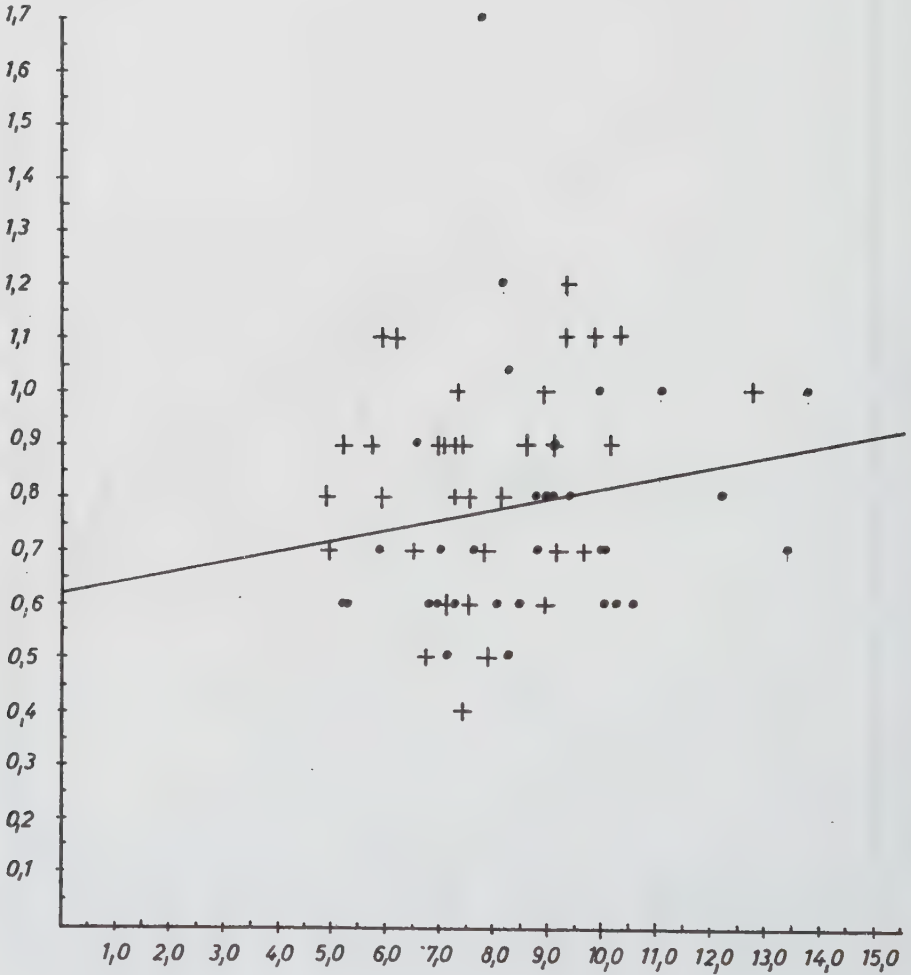
$cor = 0,090$

$y = 0,0268 x + 0,7128$

Abbildung 16

Korrelation zwischen T4/TBG-Quotient und FT4 in der Gravidität
(o = 2. Trimenon; + = 3. Trimenon)

FT4 (ng/dl)



n = 66

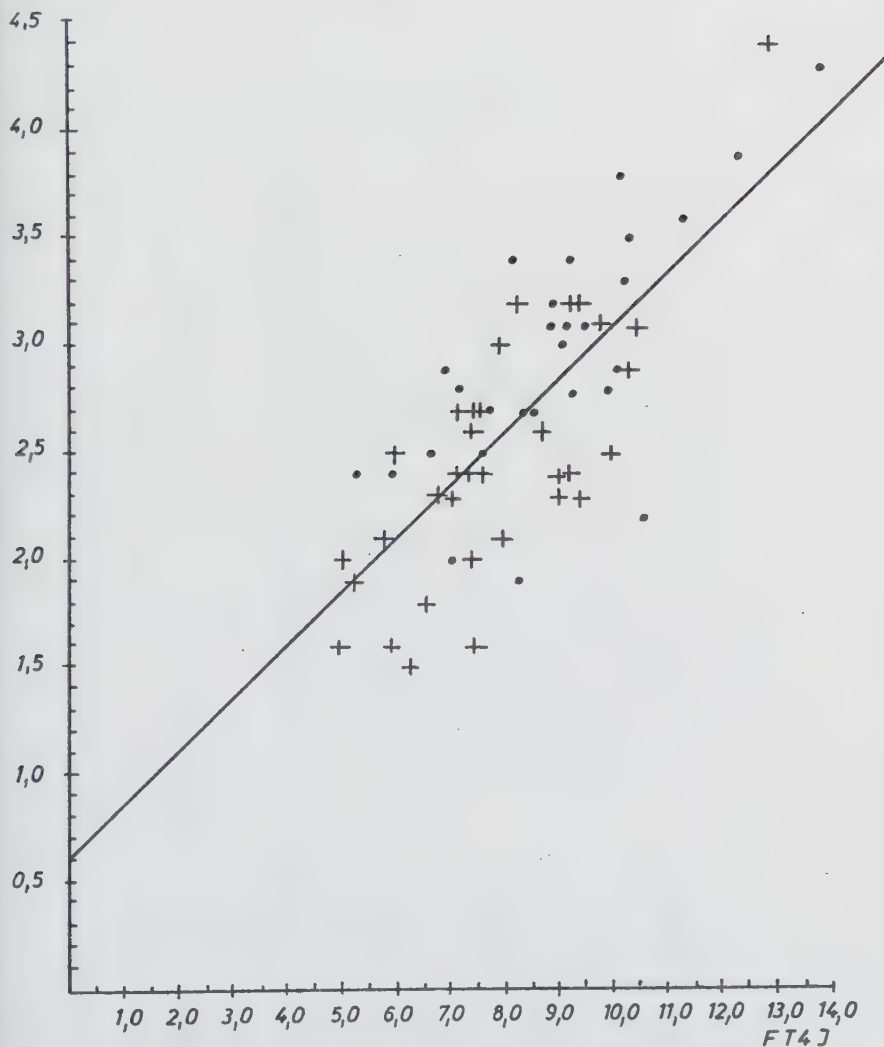
cor = 0,202

y = 0,0193 x + 0,6239

FT4I

Abbildung 17

Korrelation zwischen FT4I und FT4 in der Gravidität
(o = 2. Trimenon; + = 3. Trimenon)



$n = 66$

$cor = 0,775$

$y = 0,249 x + 0,6069$

Abbildung 18

Korrelation zwischen FT4I und T4/TBG-Quotient in der Gravidität (o = 2. Trimenon; + = 3. Trimenon)

Tabelle 6: Zusammenstellung der Korrelationskoeffizienten in den Untergruppen

Korrelation	Kontrollgruppe	Hypothyreose	Euthyreose	Hyperthyreose	Gravidität
T4/TBG:FT4	0,277	0,079	0,460	0,811	0,090
FT4J:FT4	0,452	0,194	0,492	0,839	0,202
FT4J:T4/TBG	0,420	0,864	0,700	0,673	0,775

3.3 Meßbereiche und Normwerte für FT4, T4/TBG-Quotienten und FT4I

Die Abbildungen 19 (Seite 50), 20 (Seite 51) und 21 (Seite 52) zeigen die Meßbereiche für FT4, T4/TBG-Quotienten und FT4I in den einzelnen Gruppen. Die von uns ermittelten Referenzbereiche entsprechen dem Intervall zwischen der fünften und fünfundneunzigsten Perzentile der Meßwerte der Kontrollgruppe. Die Normgrenzen liegen demnach für das freie Thyroxin bei 1,0 und 2,0 ng/100 ml, für den T4/TBG-Quotienten bei 2,2 und 6,1 und für den Freien-Thyroxin-Index bei 3,6 und 9,2.

Die Form der graphischen Darstellung gibt zusätzlich einen optischen Anhaltspunkt für die Diskriminierungsfähigkeit der verglichenen Testverfahren: Eine deutliche Überschneidungstendenz zwischen den Bereichen der einzelnen Patientengruppen findet sich beim Amerlex FT4 RIA und beim T4/TBG-Quotienten. Der FT4I weist eine größere Trennschärfe auf.

In der Gravidität sind die Ergebnisse der verschiedenen Tests widersprüchlich: Der FT4I (Abb. 21, Seite 52) liefert Werte im oberen Norm- bzw. im Hyperthyreosebereich, während der T4/TBG-Quotient die Schwangeren als euthyreot klassifiziert (Abb. 20, Seite 51). Die Meßwerte beim FT4-RIA liegen sogar größtenteils im hypothyreoten Bereich (Abb. 19, Seite 50).

Abbildung 19: Meßbereiche für FT4

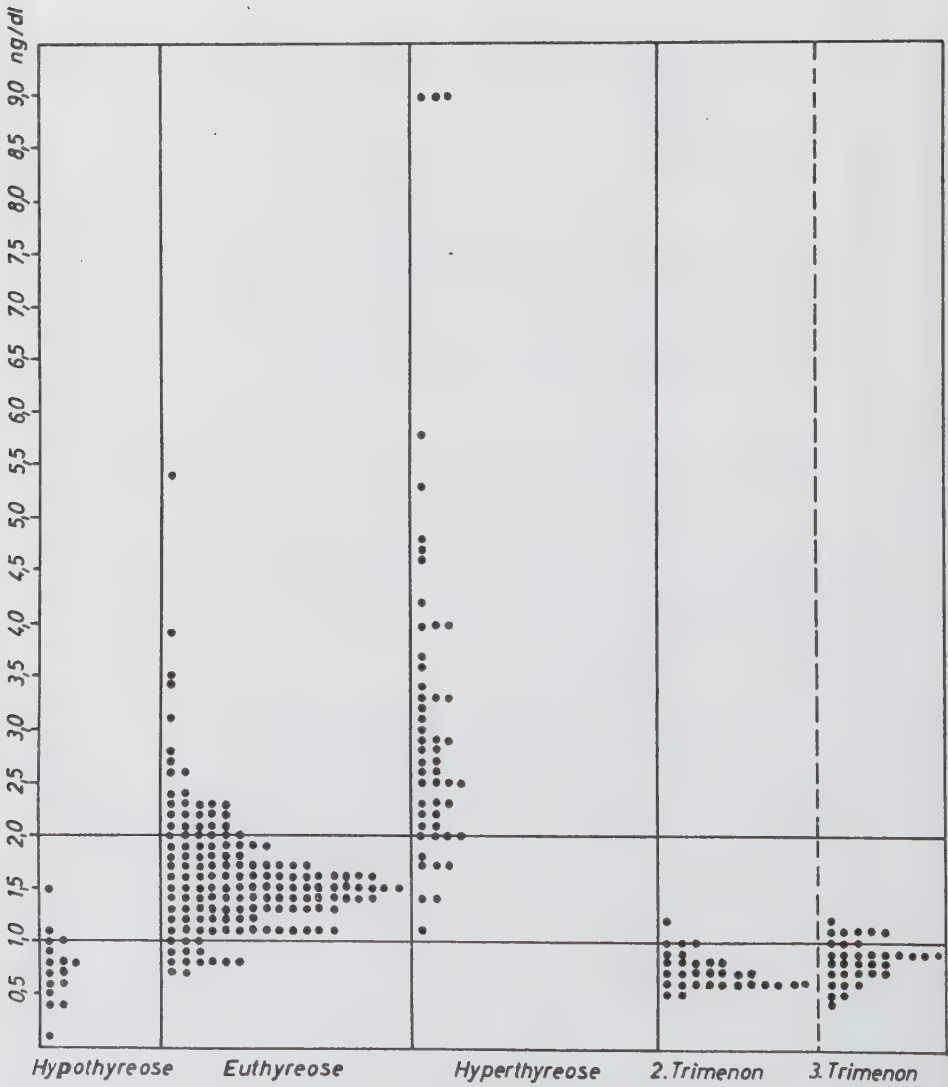


Abbildung 20: Meßbereiche für T₄/TBG-Quotienten

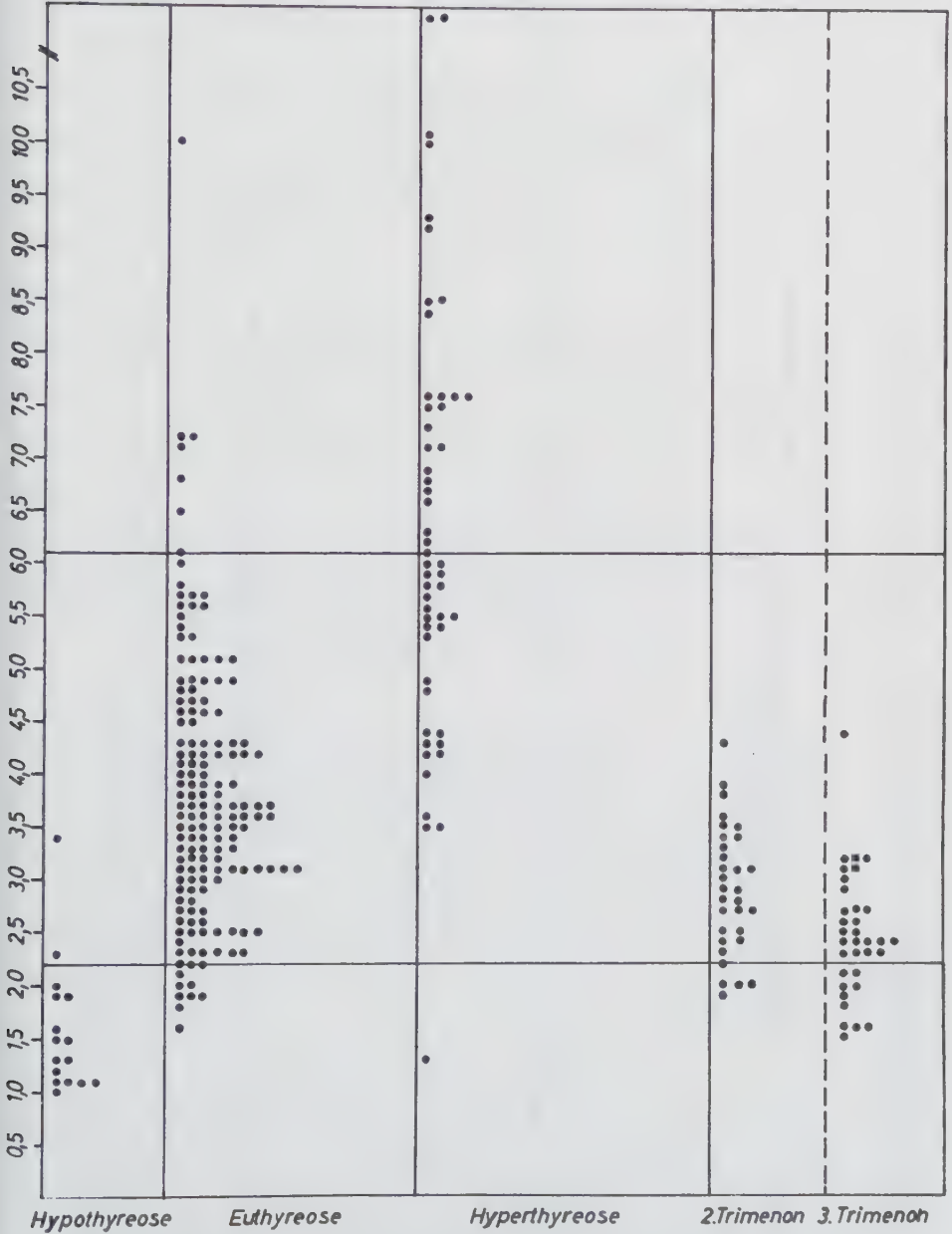
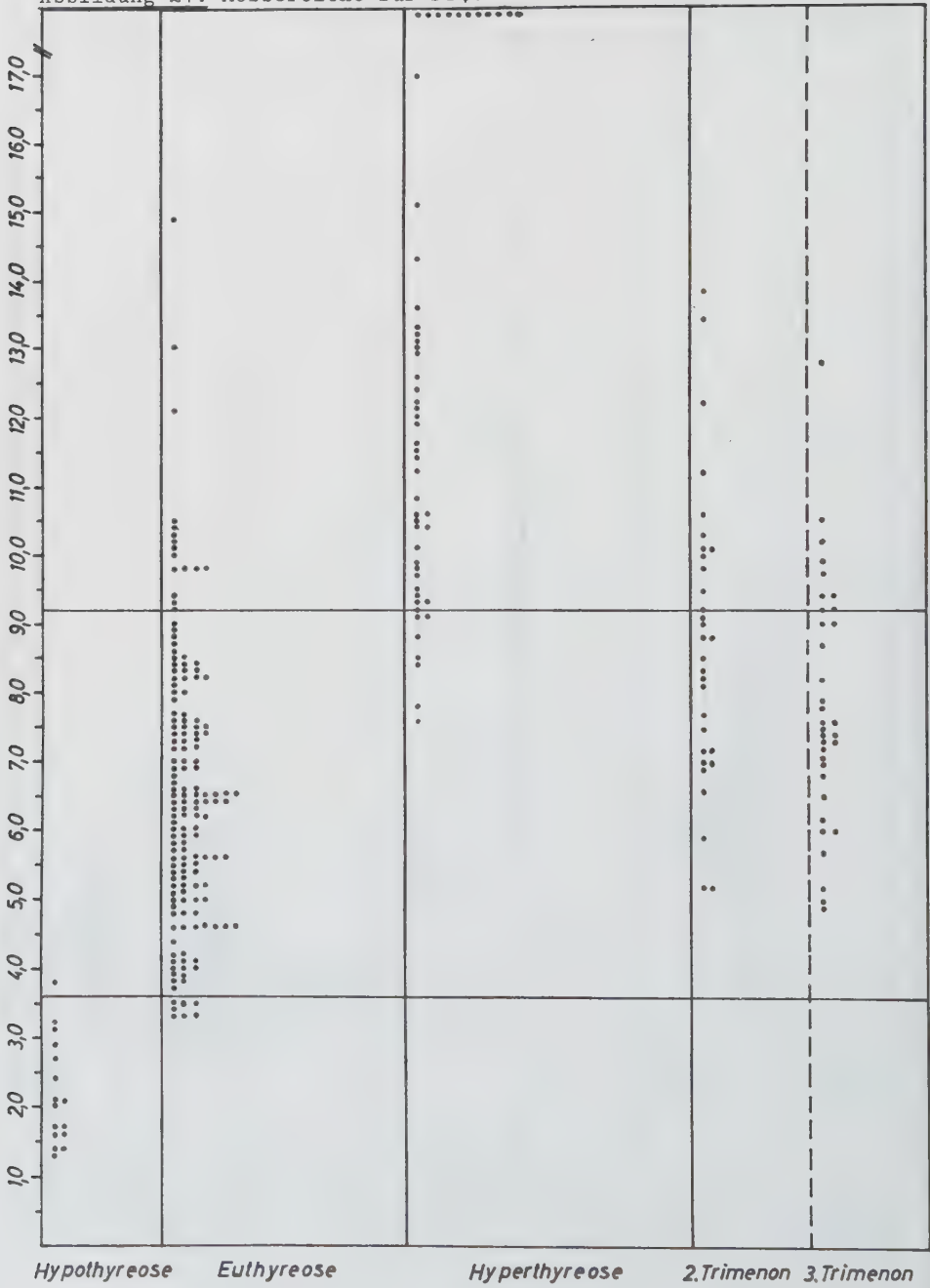


Abbildung 21: Meßbereiche für FT4I



3.4. Treffsicherheit der verglichenen Verfahren

Um die Wertigkeit der drei konkurrierenden Testverfahren in der Schilddrüsenfunktionsdiagnostik beurteilen zu können, prüfen wir, wie genau sie unsere auf Gesamt-Thyroxin-Bestimmung und TRH-Test basierende Ausgangsklassifikation (Tab. 1, Seite 15) reproduzieren.

Tabelle 7 (Seite 54) zeigt das Ergebnis für den Amerlex FT4-RIA. Die Prozentsätze der richtig klassifizierten Patienten liegen in der Hypothyreose-Gruppe bei 75,0 %, in der Euthyreose-Gruppe bei 79,8 % und in der Hyperthyreose-Gruppe bei 80,4 %.

In Tabelle 8 (Seite 55) sind die entsprechenden Daten für den T4/TBG-Quotienten aufgelistet. Im einzelnen ergibt sich hier: Hypothyreose: 93,8 %, Euthyreose: 91,6 % und Hyperthyreose: 48,1 % richtige Einordnungen.

In der Diagnostik der Hypothyreose entspricht das Ergebnis des FT4I (Tab. 9, Seite 56) dem des T4/TBG-Quotienten: Er erkennt diesen Schilddrüsenfunktionszustand in 93,8 % der Fälle richtig. Die Treffsicherheit liegt in der Gruppe der Euthyreose bei 87,7 %, in der Gruppe der Hyperthyreose bei 84,6 %.

Tabelle 7

Treffsicherheit des Amerlex FT4 RIA

Klassifikation nach T ₄ gesamt und TRH-Test	n	Klassifikation nach FT ₄ -RIA			Zuordnung richtig
		Hypothyreose	Euthyreose	Hyperthyreose	
präklin.-u.klin. Hypothyreose	16	12	4	0	75,0 %
Euthyreose	154	10	123	21	79,8 %
präklin.-u.klin. Hyperthyreose	52	0	11	41	80,4 %

Tabelle 8

Treffsicherheit des T₄/TBG-Quotienten

Klassifikation nach T ₄ gesamt und TRH-Test	n	Klassifikation nach T ₄ /TBG Quotient			
		Hypothyreose	Euthyreose	Hyperthyreose	Zuordnung richtig
präklin. u. klin. Hypothyreose	16	15	1	0	93,8 %
Euthyreose	154	7	141	6	91,6 %
präklin. u. klin. Hyperthyreose	52	0	27	25	48,1 %

Tabelle 9

Treffsicherheit des Freien-Thyroxin-Index (FT4I)

Klassifikation nach T4-gesamt und TRH-Test	n	Klassifikation nach FT4I			
		Hypothyreose	Euthyreose	Hyperthyreose	Zuordnung richtig
präklin.-u.klin.Hypothyreose	16	15	1	0	93,8 %
Euthyreose	154	6	135	13	87,7 %
präklin.-u.klin. Hyperthyreose	52	0	8	44	84,6 %

4. Diskussion

In der vorliegenden Studie wurde der Versuch unternommen, die Wertigkeit der direkten radioimmunologischen Bestimmung des freien Thyroxins im Vergleich zum Freien-Thyroxin-Index (FT4I) und dem Thyroxin/TBG-Quotienten abzuschätzen.

4.1. Patientenkollektiv und Klassifikation

Das Patientenkollektiv ist unter 2.1. genau charakterisiert. Es kann sicher nicht als repräsentativ angesehen werden, sondern entspricht den Verhältnissen am Klinikum Großhadern in München zum Zeitpunkt der Untersuchung.

Patienten mit gesichertem autonomen Adenom der Schilddrüse gingen nur insoweit in die Studie mit ein, wie sie nach den in Tabelle 1 (Seite 15) genannten Kriterien schlüssig klassifiziert werden konnten. Im Übrigen blieben die klinischen und nuklearmedizinischen Befunde, die bei allen Patienten mit Verdacht auf eine Störung der Gl. thyroidea vorlagen, außer Betracht, damit eine übersichtliche und klare Einteilung möglich wurde. Außerdem schienen diese Angaben auch deshalb entbehrlich, da sich die Fragestellung auf den Hormonstatus und nicht auf die ursächlichen Faktoren richtet.

Natürlich ist es immer problematisch, kontinuierlich verteilte biologische Parameter wie z.B. Hormonkonzentrationen durch fixe Grenzwerte in Bereiche einzuteilen.

Dementsprechend haftet auch unserer Klassifikation, wie sie in Tabelle 1, Seite 15 niedergelegt ist, eine gewisse Willkür und Vereinfachung natürlicher Gegebenheiten an. Um jedoch allzu große Subjektivität zu verhindern, richteten wir uns bei der Einteilung nach den von den jeweiligen Herstellern angegebenen Normbereichen der Testverfahren. Die Kombination von TRH-Test (200 µg i.v.) und Gesamt-T4-Bestimmung - beides lang eingeführte und allseits anerkannte Testverfahren in der Schilddrüsenfunktionsdiagnostik - schien uns als Basis für unsere klinisch orientierte Einteilung ausreichend tragfähig. Dies gilt auch im Hinblick auf die Arbeiten von SABERI (41) und VAGENAKIS (46), die zwar übereinstimmend von einer erhöhten Ansprechbarkeit der Hypophyse auf TRH schon bei geringem Absinken der Schilddrüsenhormone berichten, diese Ergebnisse aber durch Stimulation mit 400 µg TRH i.v. erzielten. Die Begriffe "präklinische" Hypo- bzw. Hyperthyreose werden in dieser Arbeit anders als bei EVERED et al. (14) zur Bezeichnung der Grauzonen zwischen Unter- und Normal- bzw. Normal- und Überfunktionszuständen der Schilddrüse gebraucht, deren Differenzierung für die klinische Praxis eine besondere Bedeutung besitzt.

4.2. Eigene Bestimmungen

Ganz allgemein läßt sich sagen, daß die in unserer Studie verwendeten kommerziellen Kits für den Benutzer keine nennenswerten methodischen Probleme aufwerfen.

4.2.1. Totaler Bindungsindex (TBI)

Der Vorteil, den die Bestimmung des TBI gegenüber dem ebenfalls gebräuchlichen T3-Uptake-Test besitzt, liegt in der Verwendung von Thyroxin anstatt Trijodthyronin zur Sättigung der unbesetzten Hormonbindungsstellen der Plasmaproteine TBG, TBPA und Albumin. Dadurch werden die natürlichen Verhältnisse besser imitiert. Darüber hinaus stellt die ELISA-Technik weit weniger Anforderungen an die Ausstattung des Labors als die Durchführung eines Radioimmunoassays. Als kritisch für die Genauigkeit müssen die kleinen Probenvolumina von nur 10 μ l bewertet werden. Da es sich bei der Indikatorreaktion (Testablauf siehe unter 2.4.2.) nicht um eine Endpunktbestimmung handelt, kommt der Einhaltung einer gleich langen Inkubationszeit für alle Teströhrchen eine wichtige Rolle zu. Für die photometrische Messung der Farbstoffkonzentration empfiehlt sich die Verwendung eines automatischen Probenwechslers, wodurch es möglich wird, die Zeitintervalle zwischen den Pipettierschritten erheblich zu verkürzen. Der Variationskoeffizient lag für ein $\bar{x}$ im mittleren Meßbereich (1,06) bei 6,5 % und ist somit durchaus befriedigend.

4.2.2. TBG-Radioimmunoassay

Die genaue Testprozedur ist unter 2.4.3. beschrieben. Wie bei der Bestimmung des TBI sind die Probenvolumina mit 10 μ l sehr knapp bemessen, was Anlaß zu erheblichen Ungenauigkeiten geben kann.

Die folgenden Pipettierschritte sind unproblematisch. Günstig erscheint, daß für die beiden Inkubationsphasen Raumtemperatur ausreicht. Kritisch dagegen ist der Fest-Flüssig-Trennschritt nach Abschluß der Zentrifugation, da der eben sichtbare, labile Niederschlag am Röhrchenboden beim Dekantieren des Überstandes und beim Trocknen der Röhrchenwände äußerst gefährdet ist. Vielleicht wäre diesem Problem durch eine höhere Zentrifugengeschwindigkeit beizukommen, wobei aber zu beachten ist, daß durch die größeren Kräfte die Antigen-Antikörperkomplexe unter Umständen zerstört werden könnten. Nach der Einarbeitungszeit erreichten wir für ein $\bar{x}$ von 21,5 mg/l einen Variationskoeffizienten von 7,4 %.

4.2.3. Amerlex FT4 RIA

Im Hinblick auf die Praktikabilität ist dieser Assay den vorher genannten überlegen, obwohl die Vorrichtungen eines Schwachisotopenlabors benötigt werden. Bezüglich der genauen Durchführung wird auf den Abschnitt 2.4.4. verwiesen. Die im Vergleich zu den oben angeführten Testverfahren um den Faktor 10 größeren Probenmengen (100 μ l) gewährleisten eine erheblich größere Präzision. Aufgrund der modifizierten Festphasentechnik (immobilisierte Antikörper) genügt ein einziger Reaktionsschritt; beim Pipettieren sorgen die deutlich gefärbten Reagenzien für gute Übersicht. Allerdings muß die einstündige Inkubation bei 37°C im Wasserbad erfolgen. Nach der Zentrifugation haftet der reichliche Niederschlag fest am Röhrchenboden; der Trennschritt erfolgt ohne Schwierigkeiten.

Mit Hilfe der drei mitgelieferten Kontrollseren errechneten sich bei der Qualitätskontrolle folgende Variationskoeffizienten (VK): für ein $\bar{x}$ von 0,15 ng/100 ml, das weit unterhalb des normalen Meßbereichs liegt, 12,6 %, für $\bar{x}=1,1$ ng/100 ml 7,6 % und für $\bar{x}=2,4$ ng/100 ml 9,0 %. Diese Werte scheinen durchaus akzeptabel.

4.3. Ergebnisse

4.3.1. Korrelationen

Wie die Abbildungen 4 - 18 (Seite 33 - 47) und Tabelle 6 (Seite 48) zeigen, sind die Beziehungen zwischen den drei verglichenen Testverfahren zur Bestimmung des freien Thyroxins in den einzelnen Gruppen sehr unterschiedlich ($cor = 0,079 - 0,864$). Die insgesamt niedrigsten Korrelationskoeffizienten ergeben sich für die Paarung T4/TBG-Quotient und FT4; insbesondere in den Kollektiven der Hypothyreose ($cor = 0,079$) und der Gravidität ($cor = 0,090$) kann hier von einer Korrelation nicht gesprochen werden. Für die Beziehung zwischen FT4I und FT4 liegen die Koeffizienten deutlich höher. Über alle Gruppen hinweg fand sich die beste Korrelation zwischen dem Freien-Thyroxin-Index und dem T4/TBG-Quotienten ($cor = 0,42 - 0,864$). Betrachtet man die Resultate in den verschiedenen Untergruppen, so ergibt sich, daß die Korrelationen im Bereich der Hypothyreose und Gravidität besonders schlecht sind, und gerade in diesen Kollektiven die Paarung FT4I und T4/TBG mit weitem Abstand vorn rangiert. Während in der Kontrollgruppe und im Bereich der Euthyreose die Korrelationskoeffizienten zwischen 0,277 und 0,7 schwanken, zeigt sich im Kollektiv der Hyper-

thyreose in allen Konstellationen eine außerordentlich gute Korrelation zwischen den verglichenen Testverfahren ($\text{cor} = 0,673 - 0,839$).

Aus all diesen Daten kann der Schluß gezogen werden, daß die drei Methoden nicht den gleichen Parameter messen. Eine Entscheidung darüber, ob oder wenn ja durch welchen Test nun wirklich das freie Thyroxin bestimmt wird, ist anhand der vorliegenden Ergebnisse aber nicht möglich.

4.3.2. Meßbereiche

Die graphische Darstellung der Meßbereiche (Abb. 19 - 21, Seite 50 - 52) zeigt, daß unter den verglichenen Laborverfahren der Freie-Thyroxin-Index (FT4I) die beste Trennschärfe zwischen den verschiedenen Funktionszuständen aufweist. Das mag zumindest zu einem Teil durch die außerordentlich breite Skalierung bedingt sein (Bereich von 0 - 100).

4.3.3. Ergebnisse in der Gravidität

Im Kollektiv der Schwangeren sind die Resultate der drei Testmethoden widersprüchlich. Die grenzwertig erhöhten oder sogar hyperthyreoten Werte des FT4I (siehe Abb. 21, Seite 52) sprechen dafür, daß die Fähigkeit dieses Verfahrens, die Einflüsse der TBG-Vermehrung in der Gravidität ausreichend zu korrigieren, begrenzt ist. Gut gelingt dies hingegen dem T4/TBG-Quotienten (siehe Abb. 20, Seite 51). Dabei zeigt sich bereits hier die Tendenz, daß die gemessenen Hormonwerte mit zunehmender Schwangerschaftsdauer abnehmen: Der Median sinkt von 2,9 im zweiten auf 2,4 im dritten Trimenon ab. Augenfällig wird dieser Trend beim FT4 RIA von Amerlex: Die von

ihm gelieferten Meßwerte liegen zu einem erheblichen Teil im hypothyreoten Bereich, eine Beobachtung, die den Angaben von MIDDLEY und Mitarbeitern (32) widerspricht.

Unsere Befunde stehen im Einklang mit den Arbeiten von ROBBINS et al. (39), AVRUSHKIN et al. (3), BOSS et al. (5, 6, 7) KURTZ et al. (24), DJAHANBAKHCH (12) und MAHLSTEDT (28), der ausdrücklich darauf hinweist, daß aus der Verminderung der Konzentration des freien Thyroxins keine therapeutischen Konsequenzen im Sinne einer Thyroxinsubstitution gezogen werden dürfen. Diese "physiologische Hypothyreose" in der Schwangerschaft, deren Existenz nicht unbestritten ist (42), könnte bedingt sein durch stetige Zunahme der TBG-Konzentration bis zur 30. Woche (22), während das Gesamt-Thyroxin nur etwa bis zur 20. Woche ansteigt (32).

4.3.4. Treffsicherheit der verglichenen Verfahren

Um die diagnostische Wertigkeit der Methoden zur indirekten Messung des freien Thyroxins mit der des direkten radioimmunologischen Nachweises vergleichen zu können, war es notwendig, die 222 Patienten mit dem Verdacht auf eine Schilddrüsenerkrankung in verschiedene Funktionszustände zu klassifizieren (siehe Tab. 1, Seite 15). Bei der Beurteilung der Treffsicherheit der konkurrierenden Verfahren (siehe Tab. 7 - 9, Seite 54 - 56) kommt der Fähigkeit, eine euthyreote Stoffwechsellaage als solche zu erkennen, ein besonders hoher Stellenwert zu, da einerseits dieser Schilddrüsenfunktionszustand durch den im Normbereich positiven TRH-Test sehr exakt definiert ist und andererseits die Selektion von Patienten mit

normaler Hormonkonzentration ein wichtiges Problem in der klinischen Praxis darstellt.

Der Amerlex FT4 RIA (siehe Tab. 7, Seite 54) ordnet von den 16 Patienten mit präklinischer und klinischer Hypothyreose 12 als hypothyreot und 4 als euthyreot ein, was einer Treffsicherheit von 75 % entspricht. Während dieses Ergebnis noch als zufriedenstellend angesehen werden kann, überrascht, daß von den 154 Probanden mit eindeutiger Euthyreose 10 als hypothyreot und 21 als hyperthyreot eingestuft werden. In dieser Gruppe ergibt sich eine richtige Zuordnung in 79,8 % der Fälle. Von den 52 Patienten mit präklinischer und klinischer Hyperthyreose werden 41 oder 80,4 % richtig erkannt, 11 werden fälschlich als gesund beurteilt.

Im Bereich der Hypothyreose und der Euthyreose sind die Ergebnisse des T4/TBG-Quotienten (siehe Tab. 8, Seite 55) mit 93,8 bzw. 91,6 % richtigen Zuordnungen deutlich besser als die des FT4-RIA. Die euthyreote Stoffwechsellaage wird von diesem Verfahren unter allen Konkurrenten sogar am sichersten erkannt. Dagegen ist die diagnostische Sensitivität dieses Quotienten für präklinische und klinische Hyperthyreosen nicht ausreichend: In über 50 % der Fälle erhält man hier falsch negative Resultate.

In allen Untergruppen reproduziert der FT4I am besten unsere auf Gesamt-T4-Bestimmung und TRH-Test basierende Ausgangsklassifikation (siehe Tab. 9, Seite 56). Seine Treffsicherheit liegt für die präklinische und klinische Hypothyreose bei 93,8 %, für die Euthyreose bei 87,7 % und für die präklinische und klinische Hyperthyreose bei 84,6 %.

Die vorliegenden Ergebnisse legen im Unterschied zur Arbeit von HOFF und REINWEIN (21) den Schluß nahe, daß in der Basisdiagnostik von Schilddrüsenerkrankungen, wie sie von der Sektion Schilddrüse der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie empfohlen wird, die direkte radioimmunologische Bestimmung des freien Thyroxins gegenüber den bereits eingeführten indirekten Methoden keine Vorteile bietet. Leichte Annehmlichkeiten in der technischen Durchführung müssen mit einer relativ schlechten Treffsicherheit bezahlt werden. Die Resultate des T4/TBG-Quotienten können nur in der Diagnostik der Euthyreose und der Hypothyreose überzeugen. Die größte Zuverlässigkeit bewies in unserer Studie der Freie-Thyroxin-Index (FT4I), der sich aus der Division von Gesamt-T4 und TBI errechnet. Anders als GOLDIE et al. (15) sind wir der Meinung, daß dieses Verfahren in der klinischen Routine erfolgreich angewandt werden kann.

5. Zusammenfassung

Bei 49 Kontrollpersonen, 66 Schwangeren und 222 Patienten mit Verdacht auf eine Schilddrüsenfunktionsstörung wurden die Resultate der Bestimmung des freien Thyroxins (FT4), des Freien-Thyroxin-Index (FT4I) und des T4/TBG-Quotienten verglichen.

Als Normwerte für die einzelnen Tests wurden die jeweiligen Meßbereiche der Kontrollpersonen herangezogen (5. - 95. Perzentile); sie liegen für das FT4 zwischen 1,0 und 2,0 ng/100 ml, für den T4/TBG-Quotienten zwischen 2,2 und 6,1 und für den FT4I zwischen 3,6 und 9,2.

Die 222 Patienten mit vermuteter Störung der Schilddrüsenfunktion wurden aufgrund der Ergebnisse einer Gesamt-Thyroxin-Bestimmung und des TRH-Tests (200µg i.v.) wie folgt eingeteilt: präklinische und klinische Hypothyreose (n = 16), Euthyreose (n = 154) und präklinische bzw. klinische Hyperthyreose (n = 52).

Eine gute Korrelation ($cor = 0,42 - 0,864$) ergab sich in allen Gruppen zwischen dem T4/TBG-Quotienten und dem FT4I, dagegen zwischen FT4 und T4/TBG bzw. FT4I nur im Hyperthyreosebereich ($cor = 0,811$ bzw. $cor = 0,839$).

In der Gravidität lieferte der Amerlex FT4 RIA Werte im hypothyreoten, der T4/TBG-Quotient solche im euthyreoten und der FT4I Werte im oberen Norm- bzw. hyperthyreoten Bereich.

In der Diskriminierung von Unter-, Normal- und Überfunktionszuständen der Schilddrüse ist der Freie-Thyroxin-Index sowohl dem Amerlex FT4 RIA wie auch dem T4/TBG-Quotienten überlegen. Die in der Literatur (32) genannten Vorteile der direkten radioimmunologischen Bestimmung des freien Thyroxins in der Schilddrüsenfunktionsdiagnostik konnten durch den Vergleich mit den eingeführten Methoden T4/TBG-Quotient und insbesondere FT4I nicht belegt werden.

6. Literaturverzeichnis:

1. Ashkar, F.S., Buehler, R., Chan, T.
Free thyroxine (FT₄) radioassay with presaturated
anti-T₄-microcapsules
J.Nucl.Med. 19, 703 (1978)
2. Ashkar, F.S., Buehler, R., Chan, T., Hourani, M.
Radioimmunoassay of free thyroxine with
prebound anti-T₄ microcapsules
J.Nucl.Med. 20, 956-960 (1979)
3. Avrushkin, T.W., Mitsuma, T., Shenkmann, L., Sau, K., Hollander, C.S.
Measurements of free and total serum T₃ and T₄
in pregnant subjects and in neonates
Amer.J.Med.Sc. 271, 309-315 (1976)
4. Bayer, M.F., McDougal, I.R.
Radioimmunoassay of free thyroxine in serum:
Comparison with clinical findings and results
of conventional thyroid function tests
Clin.Chem. 26, 1186-1192 (1980)
5. Boss, M., Djahanbakhch, O., Kingstone, D.
Thyroid disease and pregnancy
British Med.J. 2/2, 1496 (1978)
6. Boss, M., Kingstone, D.
Serum free thyroxine in pregnancy
British Med.J. 2/1, 550 (1979)
7. Boss, M., Kingstone, D.
Further observations on serum free thyroxine
concentrations during pregnancy
British Med.J. 283, 584 (1981)

8. Braverman, L.E., Abreau, C.M., Brock, P., Kleinmann, R.,
Fournier, L., Odstrchel, G., Shoemaker, H.J.P.
Measurement of serum free thyroxine by RIA
in various clinical states
J.Nucl.Med. 21, 233-239 (1980)
9. Cavalieri, R.R.
Preparation of ^{125}J labelled human thyroxine
binding alpha globulin and its turnover in
normal and hypothyroid subjects
J.Clin.Invest. 56, 79-87 (1975)
10. Chopra, I.J., Solomon, D.H., Hepner, G.W., Morgenstein, A.A.
Misleadingly low free thyroxine index and
usefulness of reverse-trijodthyronine measurement
in non-thyroidal illnesses
Ann.Intern.Med. 90, 905 (1979)
11. Crandell, R.G., Sherrill, S.M., Parsons, G.H.
Free T4 measurement in antibody coated tubes
Clin.Chem. 25, 1080 (1979)
12. Djahanbakhch, O.
Serum free thyroxine in pregnancy
British Med.J. 2, 934 (1979)
13. Eskins, R.
Commercial radioimmunoassay for free thyroxine
Lancet 1, 1190-1191 (1979)
14. Evered, C., Ormston, B.J., Smith, P.A., Hall, R., Bird, T.
Grades of hypothyroidism
British Med.J. 1, 657-662 (1973)
15. Goldie, D.J., Jones, S.R., Thomas, M.J.
A reappraisal of the free thyroxine index
The Lancet 3, 572-573 (1981)

16. Goolden, A.W.G., Gartside, J.M., Sanderson, C.
Thyroid status in pregnancy and in women taking
oral contraceptives
Lancet I, 12 (1967)
17. Halpern, E.P., Bordens, R.W.
Microencapsulated antibodies in radioimmunoassay.
II. Determination of free thyroxine
Clin.Chem. 25, 1561-1563 (1979)
18. Herrmann, J.
Such-und Schnellteste bei Schilddrüsen-
erkrankungen
Internist 17, 476-482 (1976)
19. Hertl, W., Odstrchel, G.
Kinetic and thermodynamic studies of antigen-antibody
interactions in heterogeneous reaction phases - I
Mol.Immunol. 16, 173-178 (1979)
20. Hierholzer, K., Neubert, D., Neumann, F.
Endokrinologie II
Urban und Schwarzenberg (1977), 65-212
21. Hoff, H.G., Reinwein, D.
Vorteile der direkten Bestimmung der freien
Thyroxin-Konzentration im Serum bei gestörter
Schilddrüsenfunktion
Nuc Compact 12, 168-172 (1981)
22. Horn, K., Kubiczek, Th., Pickardt, C.R., Scriba, P.C.
Thyroxin-bindendes Globulin (TBG): Präparation,
radioimmunologische Bestimmung und klinisch-
diagnostische Bedeutung
Klin.Wschr. 55, 881-894 (1977)

23. Ingbar, S.H., Freinkel, N.
Regulation of the peripheral metabolism of
thyroid hormones
Recent Progr. in Hormone Research 16, 353-403 (1960)
24. Kurtz, A., Dwyer, K., Ekins, R.
Serum free thyroxine in pregnancy
British Med. J. 2/1, 550-551 (1979)
25. Kurtz, A.B., Dwyer, K., Capper, S.J., von Borcke, S., Ekins, R.P.
Free thyroid hormone concentrations in serum
from patients on thyroxine replacement therapy
Nucl. Med. Commun. 1, 28-32 (1980)
26. Labhard, A.
Klinik der inneren Sekretion
Springer (1978) 135-285
27. Levy, P.R., Marshall, J.S., Velayo, N.L.
Radioimmunoassay for human thyroxine binding
globulin (TBG)
J. Clin. Endocrin. 32, 372-381 (1971)
28. Mahlstedt, J.
Ein neues Testprinzip zur Messung des freien
Thyroxins (FT₄) im Serum - Ergebnisse einer
Multicenterstudie
Nuc Compact 12, 56-60 (1981)
29. McDonald, L.J., Robin, N.J., Siegel, L.
Free thyroxine in serum as estimated by
polyacrylamid gel filtration
Clin. Chem. 24/4, 652-656 (1978)

30. McLagan, N.F., Howorth, P.J.N.
Thyroid function studies using resin uptake
of radioactive thyroxine from serum and total
thyroxine assay; the free thyroxine index
Clin. Science 37, 45-60 (1969)
31. Medau, H.J., Rauskolb, R.
Das Verhalten des thyroxinbindenden Globulins (TBG)
unter oraler hormonaler Kontrazeption
Klin. Wschr. 53, 727-729 (1975)
32. Midgley, J.E.M., Wilkins, T.A.
The direct estimation of free hormones by a
simple equilibrium radioimmunoassay
Sonderdruck des Radiochemical Centre
Amersham, England (1981)
33. Mincey, E.K., Thorson, S.C., Brown, J.L.
A new in-vitro blood test for determining
thyroid status - the effective thyroxine ratio
Clin. Biochem. 4, 216 (1971)
34. Nauman, J., Nauman, A.
The "effective thyroxine ratio" - new in-vitro
test of thyroid function and its correlation
with free thyroxine
Acta endocrin. 76, 83-88 (1974)
35. Oppenheimer, I.H.
Role of plasma proteins in the binding, distribution
and metabolism of thyroid hormones
New England Journal of Medicine, 278, 1153-1162 (1968)

36. Petersen, B.A., Giese, R.W., Larsen, P.R., Krager, B.L.
Measurement of free thyroid hormones in serum by
dialysis and gas chromatography
Clin.Chem. 23, 1389-1396 (1977)
37. Pickardt, C.R., Bauer, M., Horn, K., Kubiczek, Th., Scriba, P.C.
Vorteile der direkten Bestimmung des Thyroxin-
bindenden Globulins (TBG) in der Schilddrüsen-
funktionsdiagnostik
Internist 18, 538-543 (1977)
38. Pickardt, C.R.
Vorgehen bei Struma
Diagnostik 13, 82-85 (1980)
39. Robbins, J., Nelson, J.H.
Thyroxine-binding by serum protein in pregnancy
an in the newborn
J.Clin.Invest. 37, 153-161 (1958)
40. Rudorff, K.-H.
Kritische Bewertung der für die Praxis geeig-
ten In-vitro-Methoden der Schilddrüsendiagnostik
Therapiewoche 30, 6277-6289 (1980)
41. Saberi, M., Utiger, R.D.
Augmentation of thyrotropin responses to thyrotropin-
releasing hormone following small decreases in
serum thyroid hormone concentrations
J.Clin.Endocrinol.Metab. 40, 435-441 (1975)
42. Sawhney, R.C., Rastogi, I., Rastogi, G.K.
Effect of estrogens on thyroid function. II
Alterations in plasma thyroid hormone levels and
their metabolism
Metab. 27, 279-288 (1978)

43. Sterling, K., Hegedus, A.
Measurement of free thyroxine concentration
in human serum
J.Clin.Invest. 41, 1031-1040 (1962)
44. Thorson, S.C., Mincey, E.K., McIntosh, H.W., Morrison, R.T.
Evaluation of a new in-vitro blood test for
determining thyroid status: The effective thyroxine
ratio
British Med.J. 2, 67-71 (1972)
45. Thorson, S.C., Wilkins, G.W., Schaffrin, M.
Estimation of serum free-thyroxine concentration
by ultrafiltration
J.Lab.Clin.Med. 80, 145 (1972)
46. Vagenakis, A.G., Rapoport, B., Azizi, F., Portnay, G.I.,
Braverman, L.E., Ingbar, S.H.
Hyperresponse to thyrotropin-releasing-hormone
accompanying small decreases in serum thyroid
hormone concentrations
J.Clin.Invest. 54, 913-918 (1974)
47. Wenzel, K.W.
Einfluß von pharmakologischen Substanzen auf die
In-vitro-Tests der Schilddrüsenfunktionsdiagnostik:
Anlaß zu diagnostischen Irrtümern
Therapiewoche 30, 6348-6365 (1980)
48. Witherspoon, L.R., Shuler, S.E., Garcia, M.M., Kollinger, L.A.
An assessment of methods for the estimation
of free thyroxine
J.Nucl.Med. 21, 529-539 (1980)

Danken möchte ich allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, vor allem

Herrn Priv. Doz. Dr. D. Jüngst für die freundliche Überlassung des Themas und die hilfreiche Unterstützung,

Herrn Dr. S. Braun vom Institut für klinische Chemie im Klinikum Großhadern für die Bestimmung der Gesamt-Thyroxin- und TSH-Konzentrationen,

Herrn Dirschedl vom Institut für Biomathematik und Statistik der Universität München für die statistische Beratung,

Herrn H. Mayer für die Berechnung der Korrelationskoeffizienten,

Herrn R. Lupberger und Herrn J. Lindermeier für die graphische Gestaltung und die Ausföhrung der Reinschrift.

Wolfgang Lupberger
Augsburg

Lebenslauf

Am 4. Dezember 1957 wurde ich als Sohn des technischen Angestellten Richard Lupberger und seiner Frau, der Konrektorin Gertrud Lupberger, geb. Lueger in Augsburg geboren.

Zwischen 1964 und 1968 besuchte ich vier Klassen der Volksschule an der Kapellenstraße in Augsburg und trat dann in das Humanistische Gymnasium bei St. Stephan zu Augsburg über. Dort absolvierte ich 1977 die Abiturprüfung.

Seit Herbst 1977 bin ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München im Fach Humanmedizin immatrikuliert. Vor dem Landesprüfungsamt München legte ich folgende Prüfungen ab: die Ärztliche Vorprüfung 1979, den Ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 1980, den Zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 1983. Hier möchte ich mich auch dem Dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung unterziehen.

